

VERHALTEN DER T ZELL-SUBPOPULATIONEN IM
VERLAUF DER LYMPHOZYTAPHERESEBEHANDLUNG DER
CHRONISCHEN POLYARTHRITIS

HANS-OTTO RIEGER

1986

*Diss
München*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547927_0026

Aus der medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. N. Zöllner

Verhalten der T Zell-Subpopulationen im Verlauf der Lympho-
zytapheresebehandlung der chronischen Polyarthrititis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hans-Otto Rieger
aus
Feldkirchen/b. München

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. M. Schattenkirchner

Mitberichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

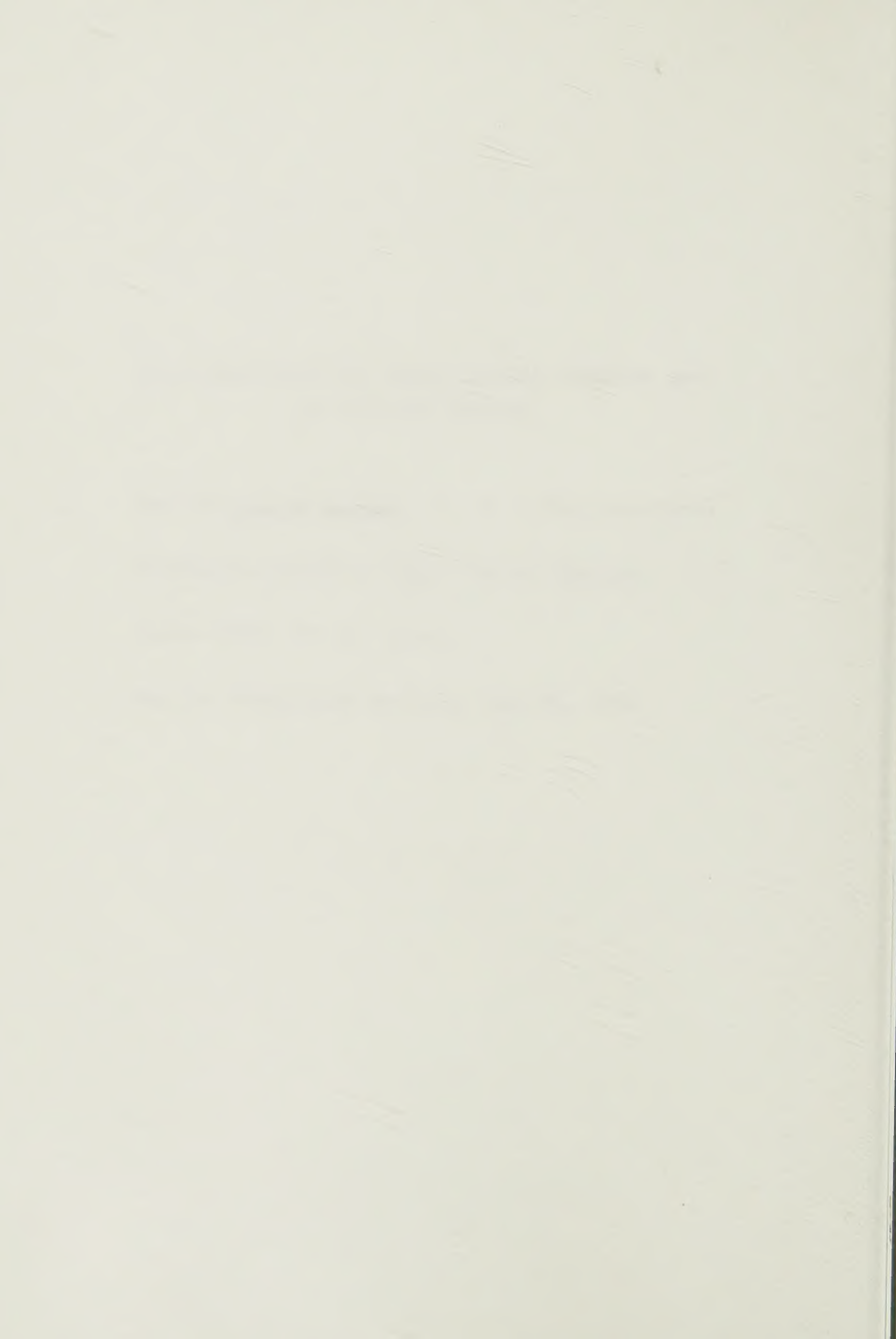
Tag der mündlichen Prüfung: 20. 05. 1986

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. Einleitung	1
2. Zielsetzung	2
3. Methodik	3
4. Ergebnisse	4
5. Diskussion	5
6. Zusammenfassung	6
7. Literaturverzeichnis	7
8. Anlagen	8
9. Glossar	9
10. Index	10
11. Bibliographie	11
12. Anhang	12
13. Tabellen	13
14. Abbildungen	14
15. Formeln	15
16. Diagramme	16
17. Skizzen	17
18. Zeichnungen	18
19. Fotografien	19
20. Karten	20
21. Diagramme	21
22. Tabellen	22
23. Formeln	23
24. Diagramme	24
25. Tabellen	25
26. Formeln	26
27. Diagramme	27
28. Tabellen	28
29. Formeln	29
30. Diagramme	30
31. Tabellen	31
32. Formeln	32
33. Diagramme	33
34. Tabellen	34
35. Formeln	35
36. Diagramme	36
37. Tabellen	37
38. Formeln	38
39. Diagramme	39
40. Tabellen	40
41. Formeln	41
42. Diagramme	42
43. Tabellen	43
44. Formeln	44
45. Diagramme	45
46. Tabellen	46
47. Formeln	47
48. Diagramme	48
49. Tabellen	49
50. Formeln	50
51. Diagramme	51
52. Tabellen	52
53. Formeln	53
54. Diagramme	54
55. Tabellen	55
56. Formeln	56
57. Diagramme	57
58. Tabellen	58
59. Formeln	59
60. Diagramme	60
61. Tabellen	61
62. Formeln	62
63. Diagramme	63
64. Tabellen	64
65. Formeln	65
66. Diagramme	66
67. Tabellen	67
68. Formeln	68
69. Diagramme	69
70. Tabellen	70
71. Formeln	71
72. Diagramme	72
73. Tabellen	73
74. Formeln	74
75. Diagramme	75
76. Tabellen	76
77. Formeln	77
78. Diagramme	78
79. Tabellen	79
80. Formeln	80
81. Diagramme	81
82. Tabellen	82
83. Formeln	83
84. Diagramme	84
85. Tabellen	85
86. Formeln	86
87. Diagramme	87
88. Tabellen	88
89. Formeln	89
90. Diagramme	90
91. Tabellen	91
92. Formeln	92
93. Diagramme	93
94. Tabellen	94
95. Formeln	95
96. Diagramme	96
97. Tabellen	97
98. Formeln	98
99. Diagramme	99
100. Tabellen	100

Meinen Eltern



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	6
2. ALLGEMEINER TEIL	7
2.1. Chronische Polyarthrit	7
2.1.1. Definition und Diagnosestellung	7
2.1.2. Ätiologie	8
2.1.3. Pathogenese	8
2.1.4. Pathologie	8
2.1.5. Klinik	9
2.2. Therapie	10
2.2.1. Pharmakologische Therapeutika	10
2.2.1.1. Nicht steroidale Antirheumatika	10
2.2.1.2. Kortikosteroide	10
2.2.1.3. Basistherapeutika	10
2.2.1.4. Immunsuppressiva	12
2.2.2. Andere Verfahren zur Lymphozytensuppression	12
2.2.2.1. Ductus thoracicus Drainage	12
2.2.2.2. Ganzkörperlymphknotenbestrahlung	13
2.2.2.3. Apheresetherapie	13
2.3. Differenzierung und Funktion der T Lymphozyten	15
2.4. Veränderungen der T Helfer, T Suppressor-Zellen in der cP	19
2.5. Ziele der vorgelegten Untersuchung	20
3. MATERIAL UND METHODEN	21
3.1. Patientengut	21
3.2. Laboruntersuchungen	26

	Seite
3.3. Lymphozytapherese	27
3.3.1. Beschreibung des Gerätes	27
3.3.2. Durchführung der Lymphozytapherese	31
3.3.3. Zeitplan der Apheresen und Nachuntersuchungen	32
3.4. Bestimmung der T ₄ , T ₈ Subpopulationen	33
4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	35
4.1. Therapieerfolg und Nebenwirkungen	35
4.2. Untersuchungen zur Verteilung der T Zell-Subpopulationen bei Normalpersonen und cP-Patienten	36
4.3. Lymphozyten und T ₄ , T ₈ Subpopulationen im Verlauf der Apheresetherapie	39
4.4. Nachuntersuchungen	59
5. DISKUSSION	66
6. ZUSAMMENFASSUNG	72
7. LITERATURVERZEICHNIS	73

1. EINLEITUNG

Die cP ist keine Erkrankung der Neuzeit. Schon die alten Ägypter und Griechen beschäftigten sich in Schriften mit dem Krankheitsbild des Rheumatismus und der Arthritis. Die folgenden zwei Jahrtausende brachten immer mehr Aufklärung in das komplexe Geschehen. 1858 grenzte dann SIR ALFRED GARROD die von ihm Rheumatoide Arthritis genannte Krankheit von der Gicht und dem akuten rheumatischen Fieber ab (24).

Durch ihre große Verbreitung besitzt die cP eine große gesundheits- und gesellschaftspolitische Bedeutung. Sind auch nicht alle Erkrankten gleich schwer betroffen, so stellt doch der chronisch rezidivierende Verlauf für den einzelnen Patienten eine enorme Belastung dar.

Die ätiologische Klärung der Krankheit und damit der Grundstein für eine kausale Behandlung steht im Mittelpunkt der Forschung. Deutlich wurde bis jetzt nur, daß vor allem immunologische Prozesse Einfluß auf die Pathogenese und die Chronizität des Verlaufs haben.

Der jetzige Stand, insbesondere bezüglich pathogenetischer Kenntnisse sowie therapeutischer Möglichkeiten, wird anschließend in einer kurzen Zusammenfassung dargestellt.

- 1) Synonyma: Progrediente chronische Polyarthritits, primär chronische Polyarthritits (pcP), rheumatoide Arthritis (RA), chronisch entzündlicher Gelenkrheumatismus.

2. ALLGEMEINER TEIL

2.1. Chronische Polyarthrit

2.1.1. Definition und Diagnosestellung

Die cP ist definiert als entzündliche, nicht infektiöse Systemerkrankung des Bindegewebes. Sie manifestiert sich überwiegend an den synovialen Gelenken und dem periartikulären Gewebe.

Die Diagnosestellung wurde aufgrund der unbekannten Ätiologie 1958 von der American Rheumatism Association (ARA) standardisiert (29).

Tabelle 1: ARA-Kriterien der rheumatoiden Arthritis

1. Morgendliche (Finger-)Steifigkeit
2. Schmerzhaftigkeit von mindestens einem Gelenk
3. Kapselschwellung von mindestens einem Gelenk (objektiv beobachtet)
4. Schwellung von mindestens einem weiteren Gelenk (höchstens 3 Monate Abstand)
5. Symmetrisch beidseitige Gelenkschwellung (außer Fingerendgelenken)
6. Subkutane Knoten
7. Typische röntgenologische Veränderungen
8. Nachweis von Rheumafaktoren (Hämagglutinations-Teste)
9. Schwache Muzin-Präzipitation in der Synovia
10. Charakteristische Histopathologie der Synovialmembran
11. Charakteristische Histopathologie der subkutanen Knoten

Zwei Kriterien (der Symptome 1, 2, 3, 6 und BSG) bei mindestens dreiwöchiger Dauer: --> Mögliche RA

Drei Kriterien (Symptome 1-5 von mindestens sechswöchiger Dauer): --> Wahrscheinliche RA

Fünf Kriterien (Symptome 1-5 von mindestens sechswöchiger Dauer): --> Definitive RA

Sieben Kriterien (Symptome 1-5 von mindestens sechswöchiger Dauer): --> Klassische RA

2.1.2. Ätiologie

Ätiologisch liegt der cP offenbar ein Autoimmun- bzw. ein Autoaggressionsmechanismus zugrunde. Das Antigen (Autoantigen) und die Startreaktion sind allerdings unbekannt (Überblick bei 11). Für ein immunologisches Geschehen sprechen die lymph- und plasmazellulären Infiltrate des Synovialgewebes mit lokaler Bildung von IgG und Rheumafaktor. Ein weiteres Argument dafür ist das Vorhandensein von Rheumafaktor-IgG Immunkomplexen in den Bindegewebläsionen, in der Synovialflüssigkeit und in den Granulozyten der Gelenkflüssigkeit.

2.1.3. Pathogenese

Nach heutigen Erkenntnissen erzeugt das Synovialgewebe auf einen unbekannten Reiz hin ein IgG, das antigen wirkt. Die Ag-Ak Reaktion mit dem dagegen gebildeten IgM Antikörper-Rheumafaktor löst über das Komplementsystem eine Entzündung aus. Dabei werden lysosomale Enzyme aus Granulozyten freigesetzt, die zu den typischen Gelenkveränderungen bei der cP führen.

2.1.4. Pathologie

Im entzündeten, ödematösen Synovialgewebe finden sich Anhäufungen von Lymphozyten und Plasmazellinfiltrate. Die Synovialflüssigkeit ist vermehrt, die Viskosität herabgesetzt. Die hypertrophische Synovitis führt zu einem aggressiven Pannus. Er überzieht und arrodiiert den Gelenknorpel, wächst in Kapsel und Sehnen ein und verursacht schließlich die Gelenkzerstörung mit Ankylose, Subluxation und Sehnenruptur.

2.1.5. Klinik

Der Morbiditätsgipfel liegt um das 40. Lebensjahr. Frauen sind dreimal häufiger betroffen als Männer. Die Erkrankung beginnt meist schleichend mit unklaren Prodromi. Grundsätzlich kann jedes synoviale Gelenk betroffen sein, jedoch vornehmlich Hände und Füße. Der Befall ist oft symmetrisch; durch Erguß, periartikuläres Ödem und Hypertrophie der Synovialmembran wirken die befallenen Gelenke teigig geschwollen. Charakteristisch ist die morgendliche Steifigkeit. Die beteiligten Gelenke weisen früh Bewegungseinschränkungen, vor allem Beugekontrakturen auf. In der Spätphase sind an den Händen die Ulnardeviation und Fehlstellungen im Sinne von Schwanenhals- bzw. Knopflochdeformitäten typisch.

Als extraartikuläre Manifestationen finden sich im subkutanen sowie synovialen und periartikulären Gewebe rheumatische Granulome oder Rheumaknoten. Sie gehen mit hohen RF-Titern einher und sind prognostisch ungünstig zu bewerten. Schwer verlaufende Krankheitsbilder haben oft eine Vaskulitis. Sie führt zu schmerzlosen Ulzerationen an Unterschenkeln und Fußrücken. Bei Befall der Vasa nervorum entsteht eine Polyneuropathie. Die Beteiligung anderer Organe verursacht entsprechend lokale Infarkte mit einer zunehmenden Verschlechterung der Prognose (Übersicht bei 48).

2.2. Therapie

2.2.1. Pharmakologische Therapeutika

2.2.1.1. Nicht steroidale Antirheumatika

Der Vorteil dieser Präparate ist die sofort einsetzende analgetische und antiphlogistische Wirkung. Sie haben jedoch weder Einfluß auf die Progression der Krankheit, noch leiten sie Remissionen ein. Der Haupteffekt bei ihrer Anwendung ist die verminderte Prostaglandinsynthese (35).

2.2.1.2. Kortikosteroide

Die Anwendung von Kortikosteroiden in der Therapie der cP erfolgt auf drei Arten:

- 1) niedrigdosierte Dauermedikation
- 2) hochdosierte Stoßtherapie
- 3) intraartikuläre Injektion

Niedrigdosierte stehen antiphlogistische Effekte im Vordergrund, in hoher Dosierung in zunehmendem Maße die immunsuppressive Wirkung (32). Letztere zeigt sich in der Erzielung einer reversiblen Lymphopenie speziell der T Helfer-Population (17). Darüberhinaus werden zytotoxische Effekte auf aktivierte T Zellen beschrieben (15).

2.2.1.3. Basistherapeutika

Gemeinsam ist ihnen das langsame Einsetzen der Wirkung innerhalb von Wochen und Monaten und das Anhalten der Wirkung über das Therapieende hinaus. Ein wichtiger Effekt ist die Erzielung von Remissionen und das Aufhalten der Progression der Krankheit. Der Einsatz der Goldtherapie

wurde 1929 vor allem von FORRESTIER propagiert (13). Er begründete den Erfolg mit der bereits 1890 von KOCH entdeckten in vitro Hemmung verschiedener Bakterien (22). Damals wurde von einer bakteriellen Ätiologie der cP ausgegangen.

Die heutigen Erkenntnisse sind:

- 1) Gold konzentriert sich in entzündeten Geweben und phagozytierenden Zellen (55).
- 2) Gold stört Makrophagen in ihrer Aufgabe als Effektorzellen (54) und als Antigen präsentierende Zellen.

Es resultiert eine verminderte monozytäre Phagozytose, eine geringere Freisetzung von lysosomalen Enzymen und erniedrigte Lymphozytenproliferation auf Mitogene und Antigene.

D-Penicillamin wurde ursprünglich zur Verminderung der Disulfidbrücken am IgM-Rheumafaktor eingesetzt. Weniger zirkulierende Immunkomplexe und niedrigere Rheumafaktortiter waren das Ergebnis. Neuere Studien haben gezeigt, daß D-Penicillamin die mitogen induzierte Lymphozyten- und Immunglobulinproliferation hemmt (25). Im Gegensatz zur Wirkung des Goldes wird dieser Effekt dem Einfluß auf die T Helfer-Lymphozyten zugeschrieben (27).

Die Antimalariamittel Chloroquin und dessen hydroxylierte Derivate akkumulieren in Lysosomen, wo sie zu morphologischen und funktionellen Veränderungen führen (26). Durch Eingriff in das Recycling der Plasmamembranrezeptoren haben sie eine Erschöpfung der Zelloberflächenrezeptoren zur Folge (52). Wie D-Penicillamin hemmen sie obendrein die mitogen induzierte Lymphozytenproliferation und Immunglobulin produzierende Zellen (47). Welcher Mechanismus wirklich die entscheidende Rolle spielt, ist weitgehend ungeklärt.

2.2.1.4. Immunsuppressiva

Eingesetzt werden Chlorambucil und Cyclophosphamid, alkylierende Substanzen, Azathioprin als Purin-Analogen und als Folsäureantagonist Methotrexat. Trotz ihrer verschiedenen Angriffspunkte im Immunsystem haben sie einige Gemeinsamkeiten. Sie brauchen mehrere Wochen, um Wirkung zu zeigen, und können Remissionen erzielen. Die meisten Autoren zählen sie deshalb auch zu den Basistherapeutika. Ihre eigentliche Wirkweise auf die cP ist ebenso unbekannt. Wahrscheinlich nehmen sie entweder durch zytotoxische Aktivität oder durch Depression der Lymphozyten-Funktion Einfluß (7).

2.2.2. Andere Verfahren zur Lymphozytensuppression

Die Veränderung der humoralen und zellulären Immunität bei Patienten mit cP und die wichtige Rolle der Lymphozyten bei diesen Vorgängen brachten neue Anstöße. Es wurden bereits bei anderen Krankheiten etablierte Therapieverfahren auf die cP angewendet und zusätzlich neue entwickelt.

2.2.2.1. Ductus thoracicus Drainage

Ein erster Ansatz zur Verminderung der Lymphozytenpopulation war die von H.E. PAULUS angewendete Ductus thoracicus Drainage (31). Mit Hilfe einer chirurgisch angelegten Fistel wurde die Lymphe von neun Patienten mit schwerer cP in einen sterilen Beutel abgeleitet. Während durchschnittlich 54 Tagen wurden im Mittel 46×10^{10} Lymphozyten entfernt. Eine subjektive Besserung innerhalb von sieben Tagen wurde kurz darauf durch klinische Tests und Laborparameter bestätigt. Nach Beendigung der Drainage dauerte die Besserung zwischen zwei und zwölf Wochen an. Die intravenöse

Reinfusion oder intraartikuläre Injektion eines Teils der entfernten Lymphozyten erzeugte jeweils eine Exazerbation der Krankheit. Aufgrund des hohen finanziellen und personellen Aufwands kommt die Ductus thoracicus Drainage für einen allgemeinen therapeutischen Einsatz nicht in Frage. Noch dazu stehen die kurzfristigen klinischen Erfolge in keinem Verhältnis zu der Gefahr von ernststen Komplikationen, speziell Infektionen.

2.2.2.2. Ganzkörperlymphknotenbestrahlung

In zwei Studien wurden Patienten mit therapieresistenter cP einer totalen Lymphknotenbestrahlung unterzogen (23,53). Mit einer Gesamtdosis von 20 bzw. 30 Gy erzielten beide in ca. 80 % der Fälle eine Besserung des Krankheitsbildes. Diese ging mit einer ungefähr zwölf Monate andauernden Lymphopenie und einer Verschiebung der T Zell-Subpopulationen zugunsten der Suppressor-Zellen einher. Die humorale Immunität wurde nicht beeinflusst. Der erneute Lymphozytenanstieg ging in den meisten Fällen mit einer erneuten klinischen Verschlechterung einher. Der entscheidende Punkt, warum die totale Lymphknotenbestrahlung als Therapie nicht in Frage kommt, ist der Todesfall in einer deutschen Studie mit nur 15 Gy Gesamtkörperdosis (NUSSLEIN, XVIII. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, München 1984).

2.2.2.3. Apheresetherapie

Apherese (grch. aphäresis = Wegnahme) ist definiert als das Entfernen von Blutkomponenten aus der intravasalen Zirkulation (21). Vier Verfahren haben in die Therapie der cP Eingang gefunden. Die Plasmapherese wurde ausgehend von Er-

folgen beim SLE zur Reduzierung von zirkulierenden Antikörpern und Immunkomplexen auch in der Rheumatoiden Vasculitis eingesetzt (49). Die Verwendung bei Patienten mit cP ohne diese Komplikation hat bisher sehr unterschiedliche Ergebnisse gezeigt (8,10,46,59,61). DWOSH und ROTHWELL bestreiten in kontrollierten Studien jeglichen Erfolg. Eine Sonderform der Apherese stellt die Kryoapherese dar. Dabei werden ebenfalls die oben genannten Plasmabestandteile entfernt. Das dritte angewendete Verfahren ist die Lymphoplasmapherese. Zu ihrer Wirkung widersprechen sich die Studien von WALLACE 1979, 1982 und VERDICKT 1983. Die meisten Arbeiten werden zum Thema Leuko- oder Lymphozytapherese veröffentlicht (4,5,6,19,20,51,58,60). Allgemein überzeugen konnte KARSH 1981 mit einem randomisierten Doppel-Blindversuch. Er unterzog zwölf Patienten jeweils dreizehn bis sechzehn Apheresen. Bei sechs von ihnen wurde eine wirkliche Lymphozytapherese durchgeführt, bei den anderen nur das gleiche Volumen an Plasma eliminiert. Alle Patienten mit wirklicher LP entwickelten eine Lymphopenie und zeigten in mehreren klinischen Parametern eine statistisch signifikante Besserung. WAHL et al. fanden in ihrer Untersuchung eine Gruppe von cP Patienten, die auf Antigenstimuli im Vergleich zu Normalpersonen geringe Proliferation zeigte. Diese Gruppe brachte in der anschließenden LP signifikant bessere Ergebnisse als eine Kontrollgruppe mit normaler Lymphozytenstimulation. Parallel dazu war das Helfer/Suppressor Verhältnis bei den anergen Patienten mit 1,8 gegenüber 3,1 bei den normal stimulierbaren Kontrollen deutlich erniedrigt.

2.3. Differenzierung und Funktion der T Lymphozyten

Die Wichtigkeit des Thymus in der Differenzierung und funktionellen Reifung von T Zellen wurde in verschiedenen tierexperimentellen Studien erwiesen. Vorläufer-Knochenmarkszellen, genannt Prothymozyten, gelangen in den Thymus, wo sie sich weiterentwickeln und funktionelle Kompetenz erlangen. Dann kommen sie in das periphere Lymphsystem, bestehend aus Milz, Lymphknoten und Blut (28,30). Fundamentale Veränderungen der Oberflächenantigene markieren den Weg der T Zell-Entwicklung (37). Beim Menschen tragen die am wenigsten entwickelten lymphoiden Zellen Antigene, die auch auf einigen Knochenmarkszellen vorkommen. Es sind ca. 10 % der Thymozyten, die mit diesem T₀ und/oder T₁₀ Antigen reagieren. Die weitere Reifung und parallel die Belegung der Thymozyten mit Antigenen zeigt Abbildung 1.

Stadium

I

II

III

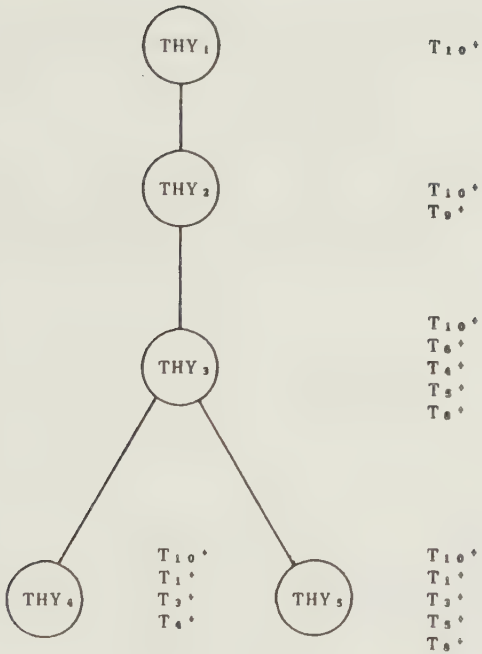


Abbildung 1: Stadien der T Zell-Differenzierung beim Menschen

Mit dem Verlust des T_6 Antigens und dem Hinzukommen des T_1 und T_3 Antigens teilen sich die Thymozyten in zwei Untergruppen (44). Durch diesen Schritt erlangen sie immunologische Kompetenz. Zugleich mit dem Verlassen des Thymus verlieren die Thymozyten das T_{10} Antigen und werden zu den im peripheren Blut zirkulierenden T_1^+, T_3^+, T_4^+ Inducer und T_1^+, T_3^+, T_5^+ Suppressor-Zellen (43). Die prozentuale Verteilung der Antigene auf Thymozyten und peripheren T Zellen zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1: Monoklonale Antikörper gegen T Zell-Oberflächenantigene

Monoklonale Antikörper	Thymozyten	periphere T Zellen
Anti T_1	10 %	100 %
Anti T_3	10 %	100 %
Anti T_4	75 %	60 %
Anti T_5	80 %	20 %
Anti T_6	80 %	30 %
Anti T_8	70 %	0 %
Anti T_9	10 %	0 %
Anti T_{10}	95 %	< 5 %

(Modifiziert nach Reinherz)

Basierend auf der Entdeckung der T_4^+ und T_8^+ Untergruppen wurden in weiteren Studien die schon früher erkannten T Zell-Funktionen auf die beiden Subpopulationen verteilt (38, 39, 42).

Tabelle 2: Immunologische Funktionen der isolierten T Zell-Subpopulationen

Funktion	T Help./Ind. (T ₁ ⁺ , T ₃ ⁺ , T ₄ ⁺)	T Cyt./Sup. (T ₁ ⁺ , T ₃ ⁺ , T ₅ ⁺)
Proliferation		
mit löslichem Antigen in	+	-
gemischter Lymphknotenkultur	+	-
auf Mitogen Con A	+	-
PHA	+	±
Zytotoxizität	-	+
Zellregulation		
unterstützend		
T - T	+	-
T - B	+	-
T - Makrophage	+	-
supprimierend		
T - T	-	+
T - B	-	+

Es muß betont werden, daß trotz gleich guter Proliferation auf Concavalin A (Con A) nur die T₃⁺ Zellen suppressiv wirkten (39,42). Daraus kann man schließen, daß die Zellen vor der Aktivierung programmiert wurden.

Die T₄ und T₃ Untergruppen bilden zusammen 80 % der peripheren T Zellen. Frühere Studien zeigten, daß die ca. 10 % T₄⁺- Zellen eine wichtige, das Immunsystem regulierende Subpopulation darstellen (40). Ein eigener monoklonaler Antikörper für diese Zellen wurde bis jetzt nicht gefunden. Sie zählen, wie auch die T₃⁺ Suppressor-Zellen, zu der T₃ Antigen positiven Population (41).

2.4. Veränderungen der T Helfer, T Suppressor-Zellen in der cP

Seit der genauen Aufklärung der T Zell-Funktion verschiedener Subpopulationen ist die Differenzierung der Lymphozyten mit monoclonalen Antikörpern auch bei Patienten mit cP verwendet worden. Fast alle Autoren fanden erniedrigte absolute und relative Zahlen von T_s Suppressor-Zellen (3, 9, 12, 36, 56, 57) manche auch erhöhte Zahlen von T₄ Zellen (14, 33). BERTOUCHE und VEYS 1982 hatten einen signifikanten Unterschied, allerdings nur bei Patienten mit cP im aktiven Stadium.

Zwei Untersuchungen entdeckten im Vergleich zu Normalpersonen kein verändertes T₄ Helfer/T_s Suppressor Verhältnis (16, 58). Bei der Aufschlüsselung ihrer Patienten mit Hilfe von Lymphozytenstimulationstests hatten die anergen Patienten jedoch ein niedrigeres, die Normergen ein erhöhtes Verhältnis, bezogen auf die normalen Kontrollen. Bei WAHL zeigte sich nach der Therapie mit Lymphozytapherese eine Annäherung des T₄/T_s Verhältnisses an die gesunden Kontrollen.

Kotzin fand eine Veränderung der T Zell-Untergruppen während der Therapie mit totaler Lymphknotenbestrahlung (23).

Tabelle 3: T₄ und T_s Subpopulationen in % und im Verhältnis zueinander

	Kontrollen	Patienten	
		vorher	nachher
T ₄	43 ± 3,4	46 ± 4,4	23 ± 3,5
T _s	23 ± 2,9	18 ± 2,6	27 ± 3,6
T ₄ /T _s	1,87	2,56	0,85

Parallel zur klinischen Besserung sank das T_4/T_8 Verhältnis bei sieben von elf Patienten sogar auf einen Wert unter 1,0.

2.5. Ziele der vorgelegten Untersuchung

Die vorliegende Arbeit soll den Stellenwert der Lymphozytapherese in der Therapie der cP abschätzen helfen. Die Anzahl und Frequenz der Behandlungen wurden auf Erkenntnisse schon vorliegender Arbeiten abgestimmt. Der Einfluß dieser Therapie auf die T Zell-Subpopulationen ist ein bisher vernachlässigter Aspekt. Untersucht wird, inwieweit die Zahl der Lymphozyten und die Verteilung der T_4 , T_8 Untergruppen mit etwaigen Therapieerfolgen korrelieren. Die langfristige Wirkung der Lymphozytapherese und ihr Einfluß auf die Lymphozytensubpopulationen wird in regelmäßigen Nachuntersuchungen, bis ein Jahr nach Beendigung der Therapie, überprüft.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Patientengut

Von den über 500 an chronischer Polyarthrititis leidenden Patienten, die in der Rheumaambulanz der Medizinischen Poliklinik behandelt werden, suchten wir neun nach folgenden Selektionskriterien aus.

- Aktiver und fortgeschrittener Zustand der Erkrankung, ab Krankheitsstadium und Funktionsstadium III nach STEINBROCKER (50) mit einem Ritchie-Index > 25 (45). Die genaue Definition der Stadien ist in den untenstehenden Tabellen beschrieben.
- Nichtansprechen auf vorausgegangene Behandlungen mit Basistherapeutika (Gold, D-Penicillamin, Resochin).
- Nicht ausreichende Wirksamkeit der gegenwärtig laufenden Medikation.

Die in der folgenden Tabelle aufgeführten Patienten waren zur Zeit der Lymphozytapherese im Mittel $48,5 \pm 13,5$ Jahre (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) alt, mit einer durchschnittlichen Krankheitsdauer von $11,7 \pm 9,1$ Jahren.

Tabelle 4: Epidemiologische Daten

Patient	Alter (Jahre)	Geschlecht m=männlich w=weiblich	Dauer der Erkrankung (Jahre)	Krankheitsstadium nach Steinbrocker Funktions- Krankheits- stadium	Ritchie Index	bisherige Basis- therapie *
1. L.R.	18	w	4	III	34	C, G, DPN
2. M.J.	55	w	18	IV	54	C, G, DPN
3. E.E.	60	w	15	IV	37	C, G, DPN
4. M.A.	42	w	6	III	28	C, G, DPN
5. S.T.	52	w	10	III	52	C, G, DPN
6. U.W.	42	w	7	III	38	G
7. W.W.	53	m	3	III	45	G, DPN
8. B.D.	64	w	32	III	40	C, G, DPN
9. S.J.	50	m	10	III	39	C, G, DPN

* C = Chloroquin, G = Gold, DPN = D-Penicillamin

Tabelle 5: Die Krankheitsstadien der chronischen Polyarthritis der Amer. Rheuma. Assoc. nach einem Vorschlag von STEINBROCKER et al. (1949)

ARA ANATOMISCHES STADIUM

Stadium I : Frühstadium

1. Keine destruktiven Veränderungen im Röntgenbild
2. Röntgenologische Hinweise auf eine Osteoporose können vorhanden sein.

Stadium II : Mäßig fortgeschrittenes Stadium

- *1. Röntgenbefunde einer Osteoporose, evtl. geringgradige destruktive Knorpel- oder Knochenveränderungen
- *2. Keine Gelenkdeformitäten, evtl. Einschränkung der Gelenkbeweglichkeit
3. Muskelatrophie
4. Extraartikuläre Weichteilbeteiligung wie Knoten und Tendovaginitis

Stadium III: Fortgeschrittenes Stadium

- *1. Knochen- und Knorpeldestruktion, zusätzlich zur Osteoporose, nach dem Röntgenbild
- *2. Gelenkdeformitäten (Subluxation, Ulnar-deviation, Hyperextension; keine Ankylosezeichen)
3. Ausgeprägte Muskelatrophie
4. Extraartikuläre Weichteilbeteiligung

Stadium IV : Endstadium

- *1. Fibröse oder knöcherne Ankylose
2. Kriterien des Stadiums III

*obligate Kriterien für die Stadieneinteilung

STEINBROCKER FUNKTIONSKLASSE

Klasse	Funktions- bzw. Arbeitsfähigkeit
I	Vollständige Fähigkeit, alle üblichen Aufgaben unbehindert auszuführen
II	Ausreichende Fähigkeit für normale Tätigkeiten trotz Behinderung durch Beschwerden oder eingeschränkte Beweglichkeit eines oder mehrerer Gelenke
III	Eingeschränkte Fähigkeit, so daß nur wenige oder gar keine üblichen Verrichtungen des täglichen Lebens (Beruf, Körperpflege) ausgeführt werden können
IV	Invalidität, Bettlägerigkeit oder Rollstuhldasein Nur geringgradige oder fehlende Selbstversorgung

Klassifikation der Funktionsfähigkeit des Patienten mit chronischer Polyarthrititis (Amer.Rheum.Assoc., entsprechend einem Vorschlag von STEINBROCKER et al., 1949)

Tabelle 6: Ritchie Gelenkindex

0 = nicht schmerzhaft 1 = schmerzhaft 2 = schmerzhaft, Patient jammert 3 = schmerzhaft, Patient jammert und zieht weg		
Gelenk		Punkte
Temporomandibulargelenk		
Halswirbelsäule		
Sternoclaviculargelenk		
Acromioclaviculargelenk		
Schulter	- links	
	- rechts	
Ellenbogen	- links	
	- rechts	
Handgelenk	- links	
	- rechts	
Metacarpophalangealgelenk	- links	
	- rechts	
Proximales Interphalangealgelenk	- links	
	- rechts	
Hüfte	- links	
	- rechts	
Knie	- links	
	- rechts	
Sprunggelenk	- links	
	- rechts	
Talocalcanealgelenk	- links	
	- rechts	
Metatarsalgelenk	- links	
	- rechts	
Gesamt		

3.2. Laboruntersuchungen

Vor und nach jeder Apherese fertigten wir zur Verlaufskontrolle ein Blutbild mit Differenzierung der Lymphozyten an. Zusätzlich wurden vor der ersten, der sechsten und der letzten Lymphapherese folgende Parameter bestimmt: Gesamteiweiß mit Elektrophorese, Immunglobuline quantitativ, Serumeisen, alkalische Phosphatase, Kalium, Natrium, Kalzium, zirkulierende Immunkomplexe, antinukleäre Faktoren, Komplement, Rheumafaktor und die Blutkörperchengeschwindigkeit.

Die Veränderungen der laborchemischen Untersuchungen im Verlauf sind Gegenstand einer weiteren Doktorarbeit.

Die Gesamtzahl der Leukozyten/ μ l und das Differentialblutbild wurden zur quantitativen Bestimmung der T Zell-Subpopulationen herangezogen.

3.3. Lymphozytapherese

3.3.1. Beschreibung des Gerätes

G. JUDSON beschrieb 1968 ein geschlossenes System, das unter sterilen Bedingungen Blut durch Zentrifugation in seine Bestandteile zerlegt und gleichzeitig in der Lage ist, die einzelnen Komponenten zu separieren (18).

In unserer Arbeit verwendeten wir den nach diesem Prinzip arbeitenden Blutzellseparator JBM 2997. Im rotierenden Teil des Gerätes, dem sogenannten Separationsring (Abb. 1), erfolgt die Aufteilung der Blutbestandteile je nach spezifischem Gewicht (Abb. 2). Durch Anordnung von Sammelstellen in dem Ring können die verschiedenen Komponenten getrennt entnommen werden (Abb. 3). Die Verbindung des Separationsrings mit dem feststehenden Teil des Systems erfolgt mit Hilfe einer Keramikdichtung (Abb. 4). Sie enthält Kanäle für den Zufluß von Vollblut und den Abtransport von Erythrozyten, Lymphozyten und Plasma. Ein weiterer Kanal ist zur Schmierung der Gleitfläche vorgesehen. Die Kanäle haben Verbindung mit dem Schlauchsystem, das gemäß Abbildung 5 in das Gerät eingelegt wird.

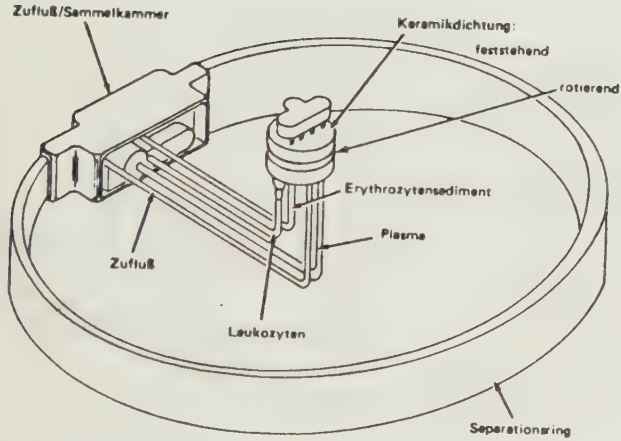


Abbildung 1: Standard Separationsring

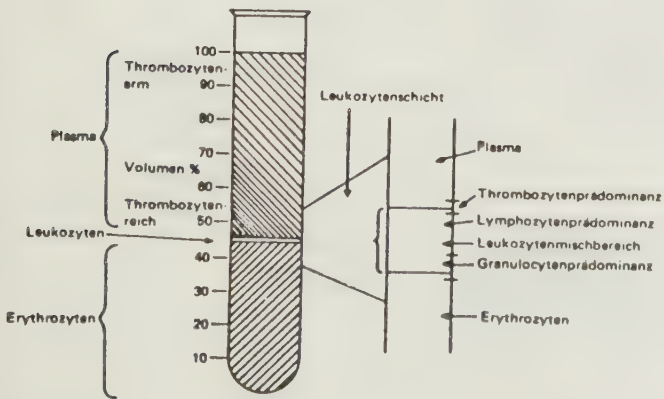


Abbildung 2: Sedimentation des Blutes

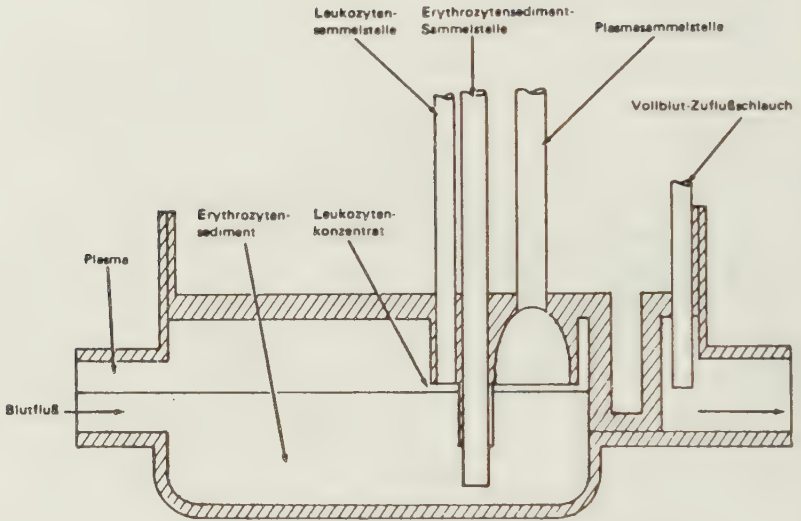


Abbildung 3: Zufluß/Sammelkammer des Standard Separations-ringes

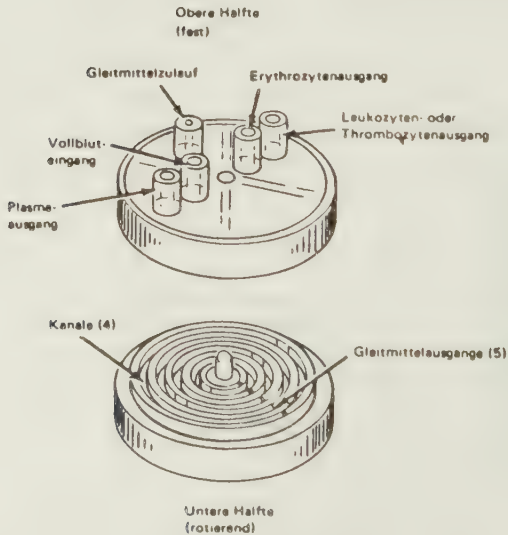


Abbildung 4: Keramikdichtung

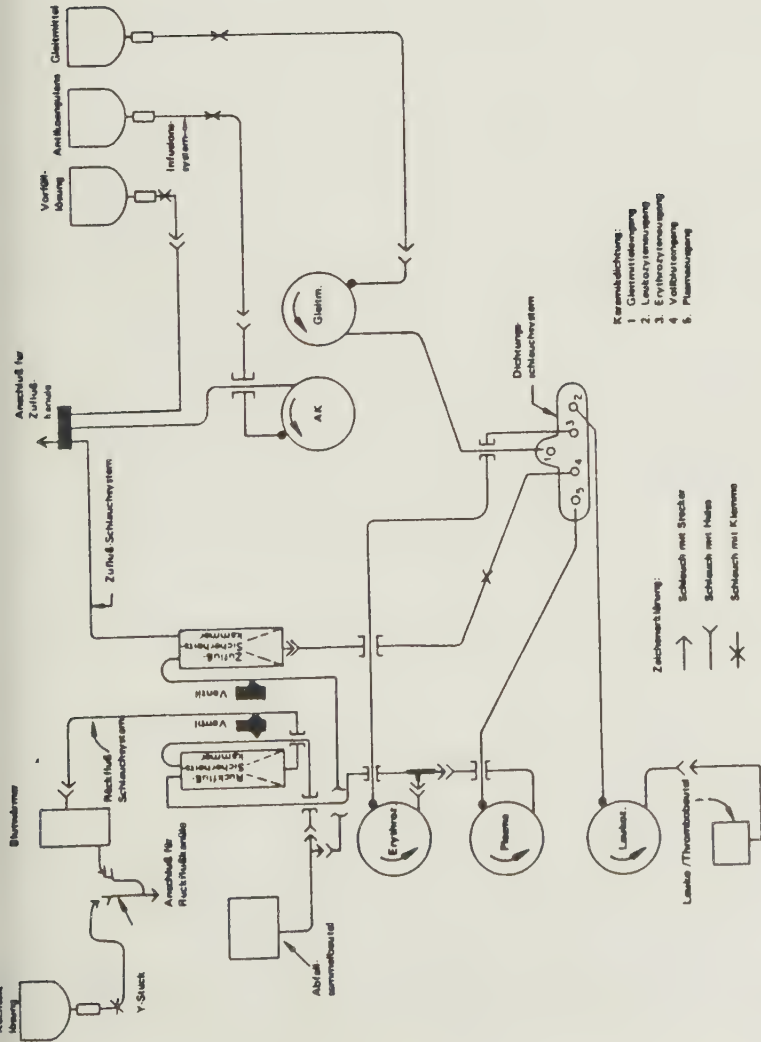


Abbildung 5: Schemadarstellung der Lymphapherese
(Abb. 1-5 aus dem IBM-Handbuch zum Blutzellseparator 2997)

3.3.2. Durchführung der Lymphozytapherese

Das Schlauchsystem und der Separationsring werden mit physiologischer Kochsalzlösung, versetzt mit 1000 i.E. Heparin pro Liter, vorgefüllt, um die Luft aus dem System zu entfernen. Die Zentrifuge wird auf 900 U/min eingestellt und der Patient mittels Butterfly an einer Unterarmvene punktiert. Nach Injektion von 5000 i.E. Heparin erfolgt der Anschluß an das Gerät. Der Vollblutzufluß in den Separationsring wird gestartet, indem man die Plasmapumpe auf eine Fließrate von ca. 50 ml/min einstellt. Zugleich wird die Antikoagulantienpumpe auf einen Fluß von 1 ml ACD-Lösung pro 15 ml Vollblut gedreht. Vollblut ersetzt jetzt das Kochsalz, das aus der Rückflußsicherheitskammer in den Abfallsammelbeutel läuft. Dies geschieht, bis sich der Separationsring so weit mit Vollblut gefüllt hat, daß die Plasmapumpe aus der Sammelkammer eine Mischung von Plasma und Erythrozyten fördert. Hat sich die Rückflußsicherheitskammer mit diesem Gemisch gefüllt, wird mit Hilfe des linken Ventils der Schlauch zum Abfallbeutel geschlossen und im selben Vorgang das Rückflußschlauchsystem geöffnet. Über eine Venenpunktion am anderen Arm des Patienten fließt das Gemisch zurück. Der Übergang zwischen Plasma und Erythrozyten verlagert sich dabei langsam radial nach innen. Hat das Erythrozytenkonzentrat ca. 0,5 mm Abstand von der Lymphozytenabsaugöffnung, ist die Erythrozytenpumpe so einzuregeln, daß dieser Zustand konstant bleibt. Dieser Abstand und die Zentrifugengeschwindigkeit von 900 U/min sind Bedingung zur Erzielung eines lymphozytenreichen Buffy Coats. Ab jetzt läuft die Lymphozytenpumpe mit einer Fließgeschwindigkeit von 2,5 ml/min, bis 250-300 ml entfernt sind. Ist diese Menge erreicht, trennt man das Schlauchsystem vom zuführenden Butterfly, und Luft ersetzt die Blut-

bestandteile im Schlauch und im Separationsring. Hat die Luft den rückführenden Butterfly erreicht, wird abgeklemmt und die beiden Zugänge werden gezogen. Ein Druckverband im Bereich der Punktionsstellen mindert die auf Grund der Antikoagulation erhöhte Gefahr der Hämatomentstehung.

3.3.3. Zeitplan der Apheresen und Nachuntersuchungen

Wir führten die Therapie zuerst 2x wöchentlich, ab dem dritten Patienten 3x wöchentlich, bis zu einer Zahl von sechs Lymphozytapheresen durch. Hatte sich nach dieser Zeit eine deutliche Besserung des klinischen Befundes und der Labordaten ergeben, wurde 2x wöchentlich bis zur Gesamtzahl von zehn Apheresen fortgeföhren. Ein Teil der Patienten erhielt im Anschluß eine Therapie mit Imurek. In regelmäßigen Abständen wurden die Patienten ein Jahr lang nachuntersucht und die T Zell-Subpopulationen bestimmt. Die Untersuchungen sind bei drei Patienten abgeschlossen, noch ausstehende Befunde werden gesondert veröffentlicht.

3.4. Bestimmung der T₄, T₈ Subpopulationen

Zur Bestimmung der Subpopulationen stand uns der Quantigen T₄, T₈ Cell Assay von Bio Rad Laboratories zur Verfügung. Untersucht wurden die Lymphozyten vor und nach der Lymphozytapherese, sowie von einer Probe der eliminierten Zellen. Um auch zu einem quantitativen Ergebnis zu kommen, fertigten wir jeweils ein Differentialblutbild an.

Zur Untersuchung wird 10 ml heparinisiertes Vollblut mit einer Zellwaschlösung¹⁾ 1:1 verdünnt und in einem Reagenzglas vorsichtig über 2 ml Lymphozyten-Isolierungsmedium²⁾ geschichtet. Bei ca. 20 °C zentrifugiert man die Probe 20 min. mit 400 g. Mit Hilfe einer Pipette saugt man den jetzt deutlich sichtbaren Ring von mononukleären Zellen ab und verdünnt diese mit 10 ml Zellwaschlösung. Nach weiteren 5 min. Zentrifugation bei 400 g wird der Überstand dekantiert und die Zellen in 10 ml Lösung resuspendiert. Der zweiten Waschvorgang erfolgt 5 min. mit 150 g. Die Zellen werden jetzt nach dem Absaugen und Resuspendieren in einer Petrischale zusammen mit 1 ml fötalem Kälberserum pro 10 ml Zelllösung der Plastikadhärenz unterzogen. Sie dient dazu, einen Großteil der bei der späteren Auszählung unerwünschten Monozyten und Makrophagen zu entfernen.

- | | |
|----------------------------------|---|
| 1) Zellwasch-Lösung | Eine Flasche mit 300 ml Lösung enthält 5-fach konzentriert Dulbecco's Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung, Ca ⁺⁺ - und Mg ⁺⁺ -frei, sowie 0,5 mM Dinatrium-EDTA und 0,05 % Natriumazid. Lagerung bei + 2 bis + 8 °C. |
| 2) Lymphozytenisolierungsmedium: | Ficoll Isopaque Reagenz d = 1,077 sterilisiert |

Nach 45minütiger Adhärenz werden die noch in Lösung befindlichen Zellen gezählt und auf eine Größenordnung von $0,75-1,25 \times 10^6$ Zellen pro 100 μ l eingestellt. 100 μ l der Zellsuspension mischt man mit 200 μ l Immunobead-Reagenz³⁾ und zentrifugiert 3 min. bei 150 g. Zur Färbung der toten Zellen wird 100 μ l Erythrosin B⁴⁾ dazugegeben. Mit einer großlumigen Pipette resuspendiert man vorsichtig die Zellen, trägt einen Tropfen auf einen Objektträger und legt ein Deckglas darauf. Die Zellen werden im Mikroskop unter einem 40fachen Objektiv ausgezählt. Dabei zählen Lymphozyten mit 3 und mehr roten Beads zu T₄, mit 3 und mehr gelben zu T₈ Zellen. Lymphozyten mit weniger als 3 Beads gehören zur Population der Null- oder B Zellen. Monozyten und Makrophagen, die bei der Plastikadhärenz nicht eliminiert wurden, kann man im Mikroskop durch die Phagozytose der Immunobeads von Lymphozyten unterscheiden.

- | | |
|------------------------|---|
| 3) Immunobead-Reagenz | Ein Fläschchen enthält 5 ml einer Suspension monoklonaler Anti-T ₄ -Antikörper und Anti-T ₈ -Antikörper, kovalent gebunden an polymere Beads in Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung, 0,1 % BSA (Rinderserum Albumin) und 0,01 % Natriumazid. Lagerung bei + 2 bis + 8 °C. |
| 4) Erythrosin B Lösung | Ein Fläschchen enthält 3 ml einer Lösung von 0,03 % Erythrosin B in Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung und 0,01 % Natriumazid. Lagerung bei + 2 bis + 8 °C. |

4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

4.1. Therapieerfolg und Nebenwirkungen

Auf Grund der klinischen Befunde und Laborparameter kann man das Ergebnis der Lymphozytapherese in drei Gruppen unterteilen. Drei Patienten (U.W., W.W., B.D.) entwickelten innerhalb der ersten sechs Apheresen eine deutliche Besserung. In allen drei Fällen wurden noch zwei weitere Apheresen angeschlossen. Der Erfolg hält im bisherigen Beobachtungszeitraum von sieben, sechs bzw. drei Monaten an. Bei vier Patienten besserte sich das Krankheitsbild in geringem Maße während der Apheresen, und es wurde zusätzlich im Verlauf der Nachuntersuchungen eine positive Tendenz deutlich. Bei zwei Patienten war die Lymphozytapherese und die anschließende Basisbehandlung ohne jeglichen Erfolg. Ernsthafte Komplikationen traten während der Lymphozytapherese nicht auf. Eine Patientin klagte zweimal während der Therapie über Parästhesien und Krämpfe in den Beinen, die mit einem erniedrigten Serum Calziumspiegel von knapp unter 2 mmol/l einhergingen. Auf die langsame Injektion von 5 ml 10 %igem Calzium verschwanden die Symptome. Der erniedrigte Spiegel ist wahrscheinlich auf die Verwendung von ACD-Lösung zur Antikoagulation zurückzuführen. Geringe Probleme gab es bei Patienten mit schlechtem Venenstatus durch Hämatombildung an den Punktionsstellen. Sie behinderten jedoch den normalen zeitlichen Ablauf der Apheresen nicht. Lediglich bei einer Patientin mit bereits niedrigem Ausgangs-Hb wurde die Therapie nach der achten Apherese bei einem Hb von 9,6 vorzeitig beendet.

Bei einer Patientin entwickelte sich während der Apherese eine Lymphopenie, so daß die Therapie ebenfalls vorzeitig beendet wurde.

Die bei anderen Apheresetherapien beschriebenen Nebenwirkungen wie Infektionen der Punktionsstellen und allergische Erscheinungen traten während unserer Behandlungen nicht auf. Ebenso beobachteten wir keinen Rebound-Effekt. Diese Beobachtung ist zum Teil der Tatsache zuzuschreiben, daß nur geringe Volumen durch die Therapie entfernt werden, und so keine Substitution mit Humanalbumin oder anderen Medikamenten nötig ist.

4.2. Untersuchungen zur Verteilung der T Zell-Subpopulationen bei Normalpersonen und cP-Patienten

Zur Bestimmung eines Standards wurden bei zehn Normalpersonen und 23 Patienten mit cP der T_4/T_8 Quotient bestimmt. In der folgenden Graphik sind diese Untersuchungen abgebildet und im Falle der Patienten nach verschiedenen Kriterien aufgeschlüsselt. Angeregt durch die Untersuchungen von WAHL et al. wurde parallel zur Bestimmung der T Zell-Subpopulationen die Lymphozytenstimulation getestet (58). Dabei wird mit Hilfe von löslichen Antigenen wie Tetanustoxoid oder Streptokinase-Streptodornase eine bestimmte Zahl von Lymphozyten zur Proliferation angeregt. Der Erfolg dieser Stimulation verglichen mit einem Normalkollektiv ergibt dann eine normerge, hyper- oder anerge Reaktionslage.

Mit der Aufschlüsselung nach der Steroidtherapie soll die Behauptung untersucht werden, daß Kortison einen suppressierenden Effekt auf die T_4 Helfer-Population hat (17). Es wurde dabei keine Rücksicht auf die Höhe der Dosis genommen. Sie bewegte sich zwischen 5 und 20 mg Kortison-äquivalent.

Legende zu

Abbildung 6: T_4/T_8 Verhältnis bei cP-Patienten und Normalpersonen

- I Patienten mit cP gesamt
- II Patienten, die anschließend der Lymphozytapherese unterzogen wurden
- III gemäß Stimulationstest anerge Patienten
- IV gemäß Stimulationstest normerge Patienten
- V Patienten mit laufender Steroidtherapie
- VI Patienten derzeit ohne Steroidtherapie

(Die Linie, welche die Punktsäule unterteilt, entspricht dem Mittelwert des T_4/T_8 Quotienten).

Nach dem Wilcoxon-Mann-Whitney Test für die Summe der Rangzahlen ergab sich zwischen anergen und normergen Patienten ein signifikanter Unterschied mit $p < 0,02$. Die Gruppen V und VI unterschieden sich nach diesem Test nicht signifikant.

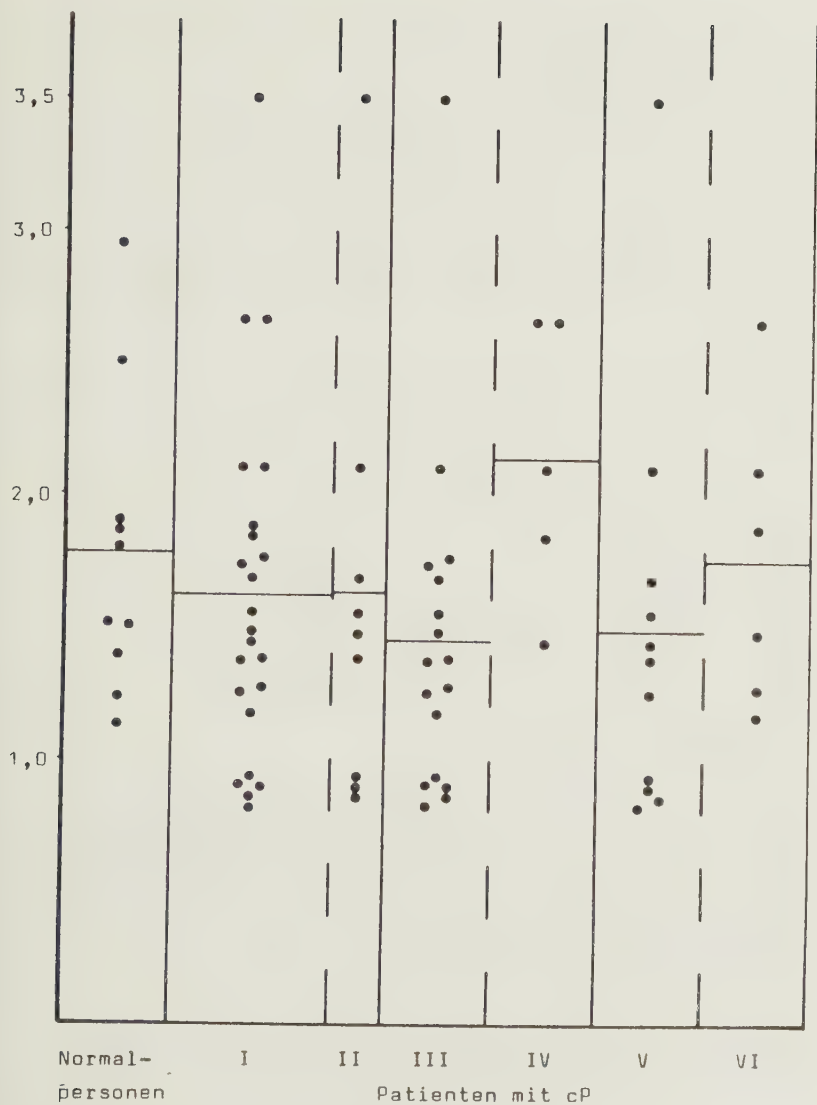
T₄/T₈

Abb. 6: T₄/T₈ Verhältnis bei cP-Patienten und Normalpersonen

4.3. Lymphozyten und T₄, T₈ Subpopulationen im Verlauf der Apheresetherapie

Während der insgesamt 63 durchgeführten Apheresen wurden im Mittel $4,22 \times 10^9$ Lymphozyten entfernt. Dies entspricht $70 \pm 15,4 \%$ der Gesamtzahl an eliminierten Leukozyten. Die Zahl der durchschnittlich gesammelten Monozyten betrug $0,73 \times 10^9$ (12 % der Leukozyten). Pro Apherese wurden zwischen $0,85 \times 10^9$ und $10,8 \times 10^9$ Lymphozyten entnommen.

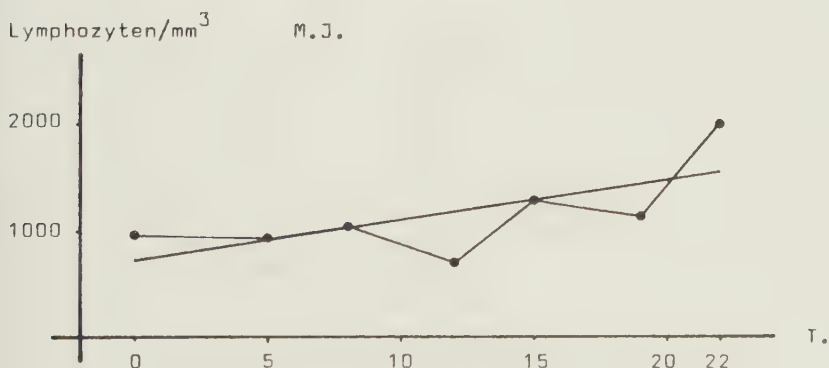
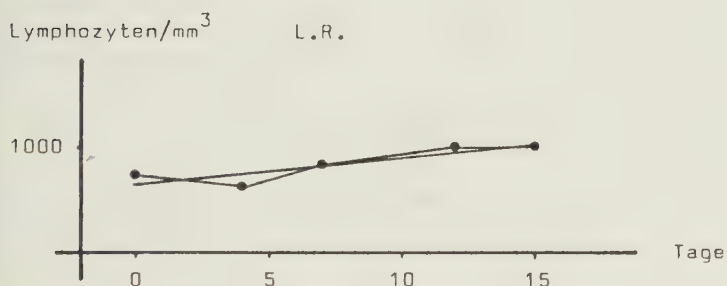
Tabelle 7: Gesamt eliminierte Lymphozyten ($\times 10^9$)

NAME	Lymphozyten nach 6 LP	Lymphozyten gesamt	$\bar{x} \pm s$
L.R.	17,04	-	$3,41 \pm 1,25$
M.J.	15,82	-	$2,26 \pm 1,31$
E.E.	34,06	44,38 (10) ¹	$4,44 \pm 3,01$
M.A.	23,74	-	$3,96 \pm 1,41$
S.T.	41,18	-	$8,24 \pm 2,18$
U.W.	25,24	33,23 (8) ¹	$4,15 \pm 1,04$
W.W.	23,45	30,24 (8) ¹	$3,81 \pm 1,44$
B.D.	18,80	26,59 (8) ¹	$3,32 \pm 0,61$
S.J.	33,68	-	$5,61 \pm 0,26$

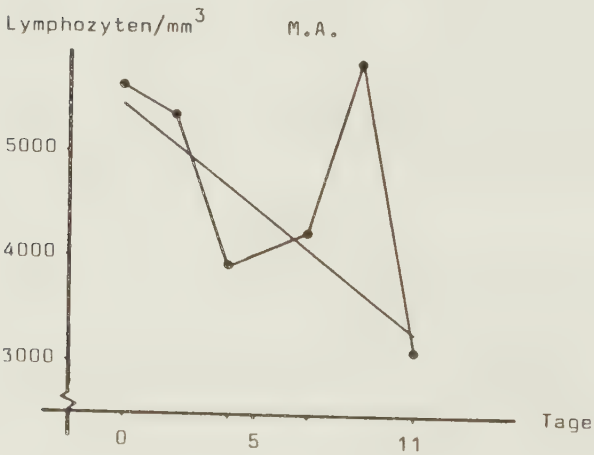
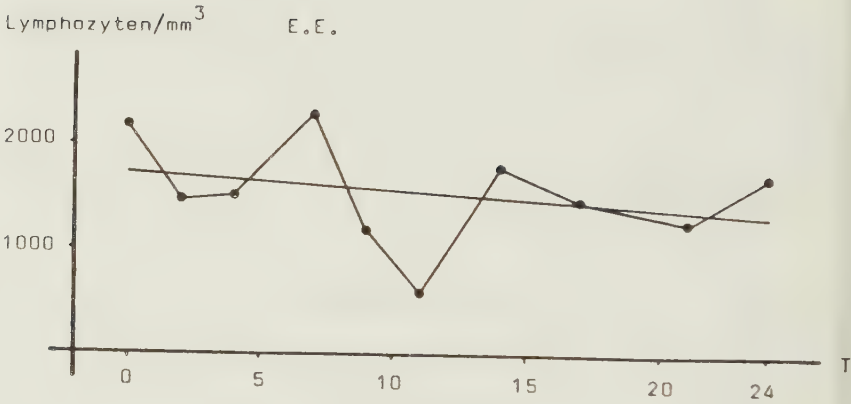
¹ Gesamtzahl der Apheresen

Auf diesen Eingriff in das periphere Lymphozyten-Kompartiment reagierten die einzelnen Patienten sehr unterschiedlich. Drei Patienten verzeichneten eine Zunahme der Lymphozyten zwischen 39 und 107 %, die restlichen zeigten die erwartete Abnahme der Lymphozyten.

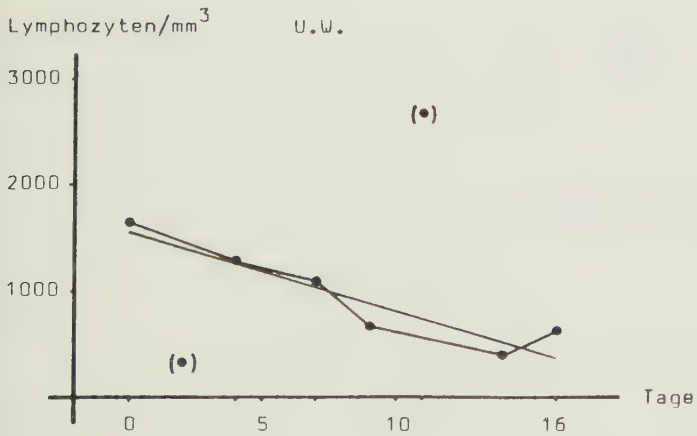
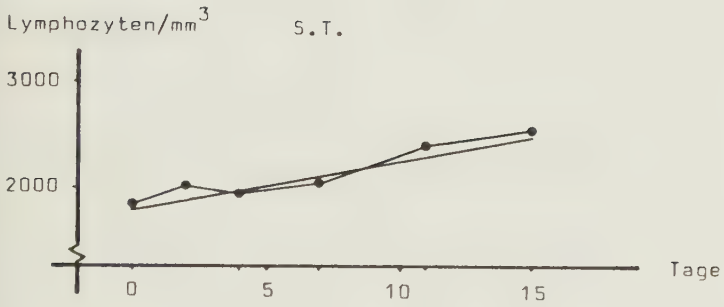
Die drei Patienten mit der stärksten Reduzierung (zwischen 42 und 76 %) hatten parallel auch den deutlichsten Therapieerfolg. Die durch die Einzelwerte gezogene Ausgleichsgerade ist rechnerisch ermittelt.



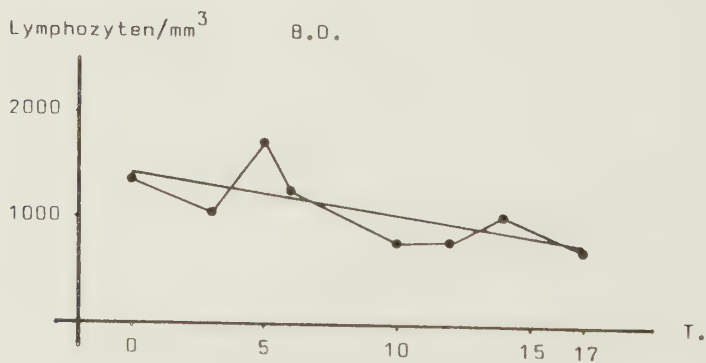
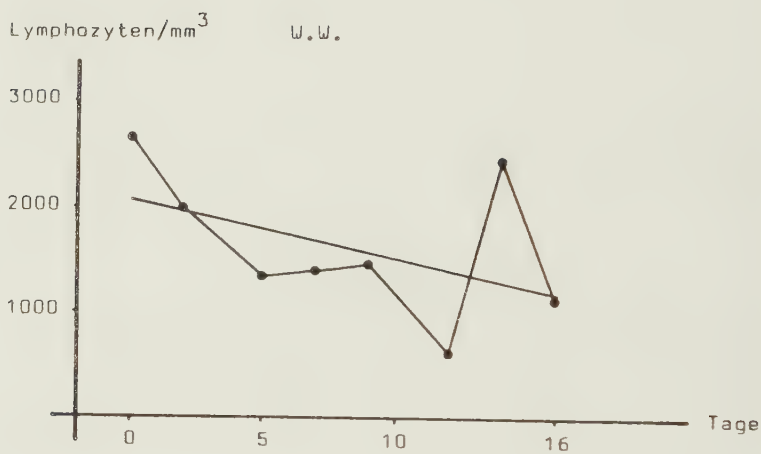
Abbildungen 7,8: Lymphozytenverlauf im Blut der Patienten bestimmt vor jeder Apherese



Abbildungen 9,10: Lymphozytenverlauf im Blut der Patienten bestimmt vor jeder Apherese



Abbildungen 11,12: Lymphozytenverlauf im Blut der Patienten bestimmt vor jeder Apherese



Abbildungen 13,14: Lymphozytenverlauf im Blut der Patienten bestimmt vor jeder Apherese

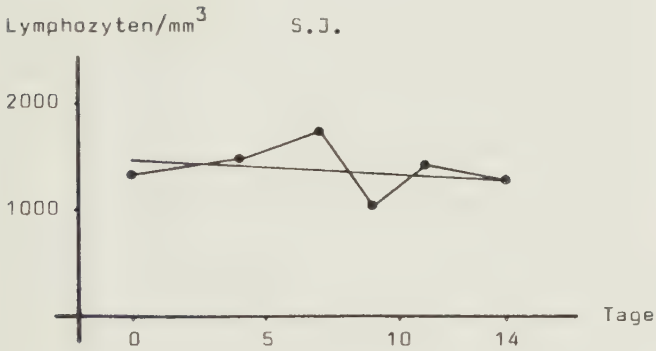


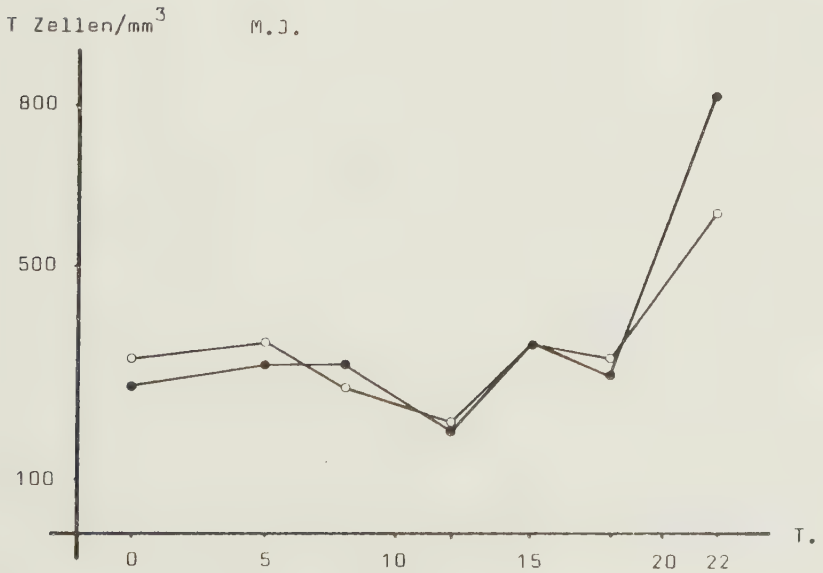
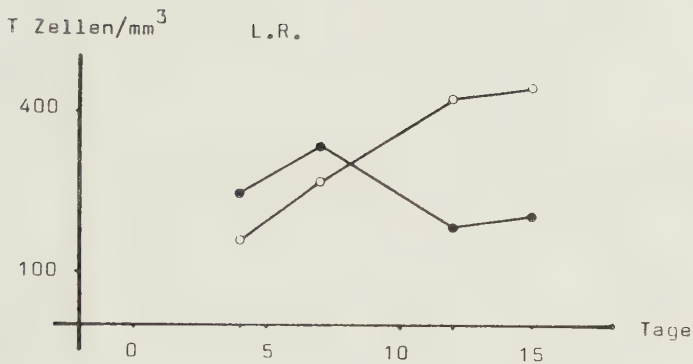
Abbildung 15: Lymphozytenverlauf im Blut der Patienten bestimmt vor jeden Apherese

Die Reduzierung der zirkulierenden Lymphozyten wirkte sich nicht nur auf die Gesamtzahl, sondern auch auf die T Zell-Subpopulationen sehr verschieden aus. Im peripheren Blut kommen Verläufe mit einer Verminderung der T Helfer-Zellen und gleichzeitigen Zunahme der Suppressor-Zellen, in zwei Fällen genau umgekehrte Entwicklungen und ebenfalls zweimal parallele Veränderungen vor.

Tabelle 8: Verlauf der T₄, T₈ Subpopulationen pro mm³ und in Prozent der Lymphozyten in Klammern, jeweils vor der Lymphozytapherese (LP).

Name	T	LP1	LP2	LP3	LP4	LP5	LP6	LP7	LP8	LP9	LP10
L.R.	4	n.b.	245 (40)	336 (40)	181 (18)	201 (20)					
8	n.b.	158 (26)	269 (32)	423 (42)	442 (44)						
M.J.	4	276 (29)	317 (34)	312 (30)	190 (27)	351 (28)	291 (26)	820 (41)			
8	325 (34)	354 (38)	270 (26)	203 (29)	351 (28)	325 (29)	600 (30)				
E.E.	4	1063 (51)	n.b.	716 (47,5)	1293 (57)	n.b.	316 (55)	928 (52)	727 (50)	761 (61)	1065 (63)
8	296 (14)	n.b.	114 (7,5)	204 (9)	n.b.	86 (15)	303 (17)	335 (23)	238 (19)	190 (11)	
M.A.	4	2649 (47)	n.b.	2226 (57)	2066 (49)	n.b.	1331 (43)				
8	1916 (34)	n.b.	1094 (28)	1223 (29)	n.b.	743 (24)					
S.T.	4	626 (34)	n.b.	n.b.	948 (47)	933 (39)	n.b.				
8	699 (38)	n.b.	n.b.	424 (21)	550 (23)	n.b.					
U.W.	4	703 (43)	n.b.	525 (41)	437 (40)	n.b.	1177 (44)	n.b.	219 (36)		
8	474 (29)	n.b.	486 (38)	437 (40)	n.b.	1043 (39)	n.b.	201 (33)			
W.W.	4	1257 (48)	n.b.	529 (42)	612 (44)	n.b.	263 (42)	n.b.	411 (37)		
8	607 (23)	n.b.	293 (22)	334 (24)	n.b.	194 (31)	n.b.	466 (42)			
B.D.	4	432 (32)	n.b.	564 (33)	n.b.	357 (46)	n.b.	n.b.	203 (29)		
8	257 (19)	n.b.	342 (20)	n.b.	132 (17)	n.b.	n.b.	n.b.	168 (24)		
S.J.	4	513 (38)	492 (33)	507 (29)	n.b.	549 (39)	517 (40)				
8	405 (30)	447 (30)	557 (32)	n.b.	478 (34)	413 (32)					

n.b. = zu diesem Zeitpunkt wurden die Subpopulationen nicht bestimmt



Abbildungen 16, 17: T Zell-Verlauf während der Lymphapherese (●—● T₄, ○—○ T₈)

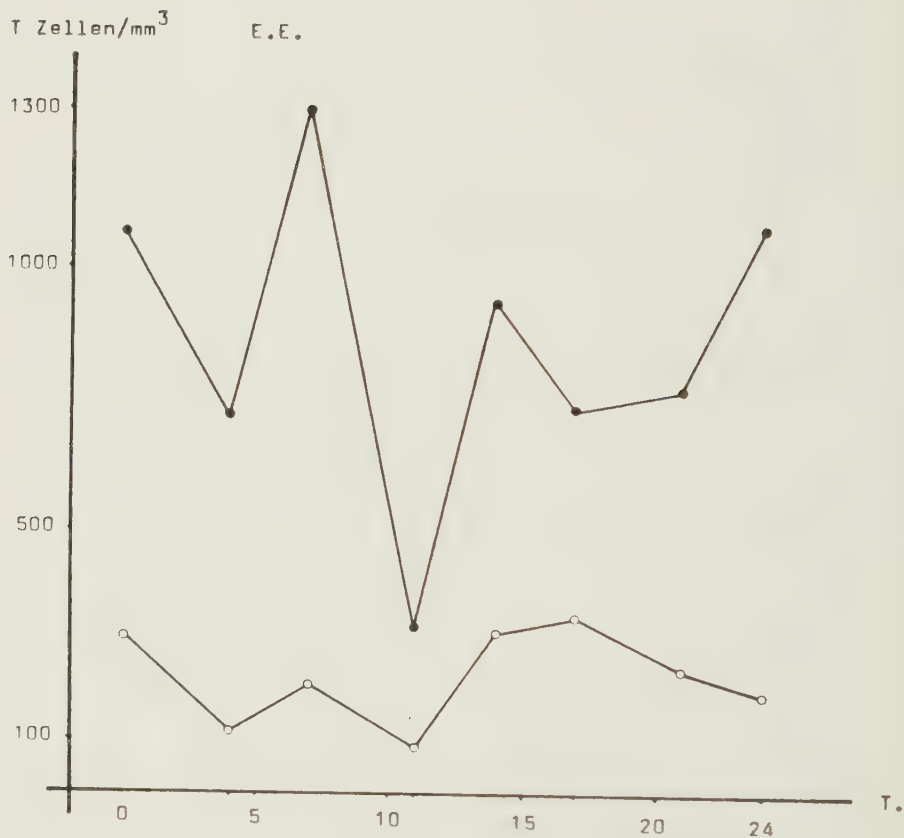
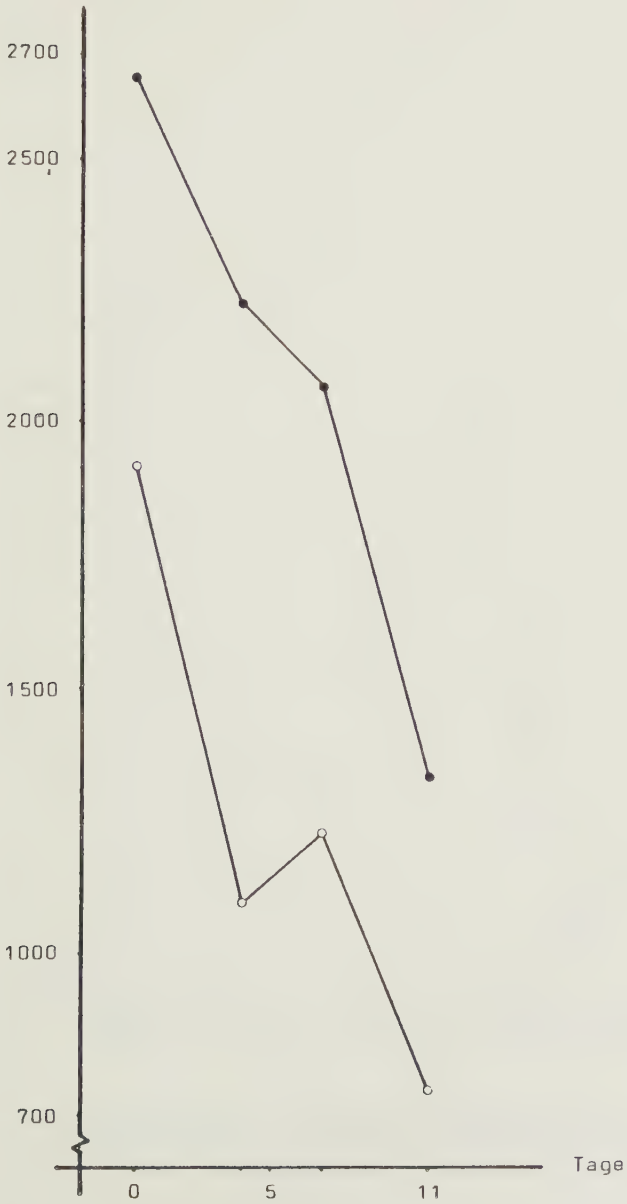


Abbildung 18: T Zell-Verlauf während der Lymphapherese
(●—● T₄, ○—○ T₈)

Abbildung 19: T Zell Verlauf während der Lymphapherese
(●—● T₄, ○—○ T₈)
siehe nächste Seite

T Zellen/mm³

M.A.



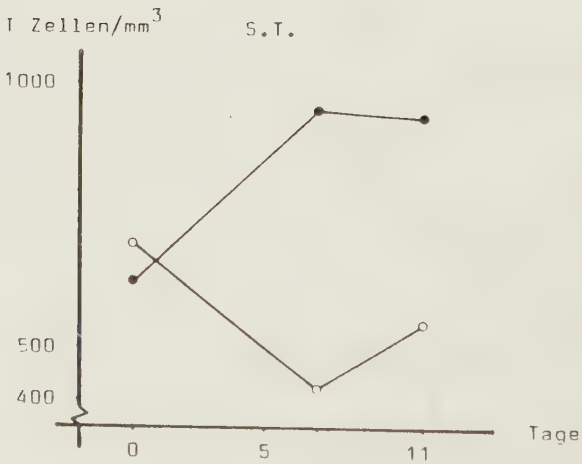


Abbildung 20: T Zell-Verlauf während der Lymphapherese
 (●—● T₄, —○ T₈)

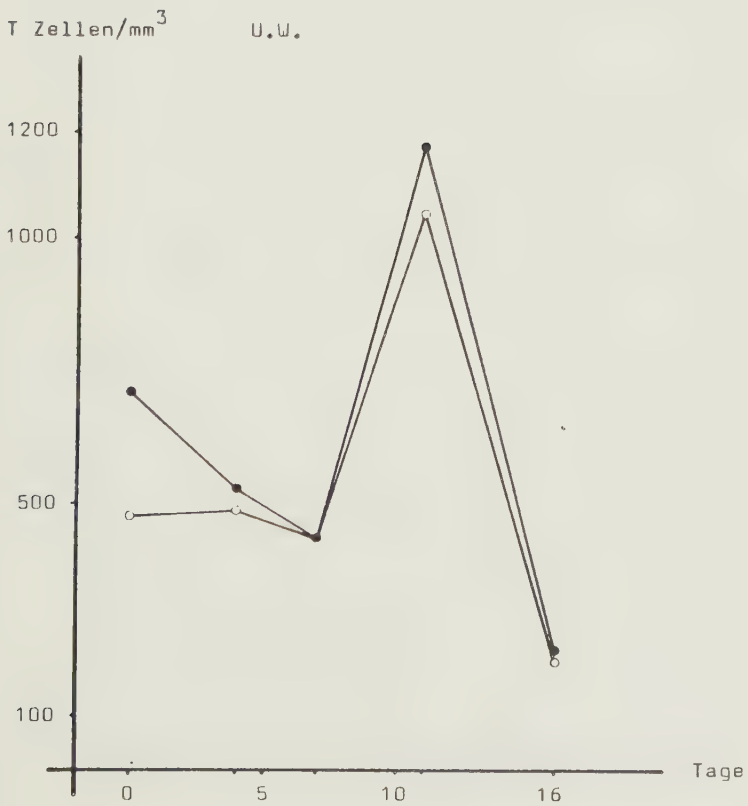


Abbildung 21: T Zell-Verlauf während der Lymphapherese
(●—● T₄, ○—○ T₈)

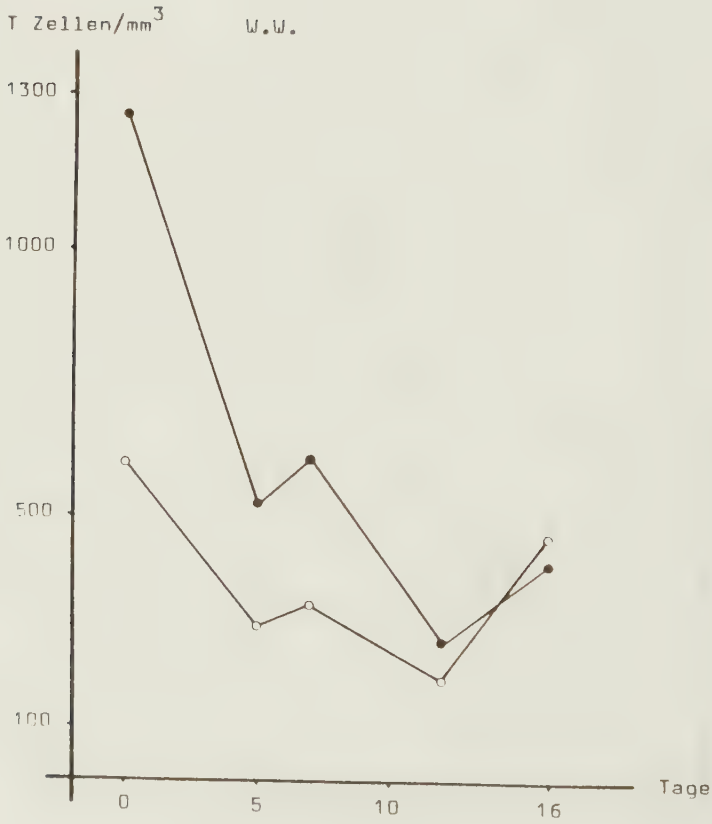
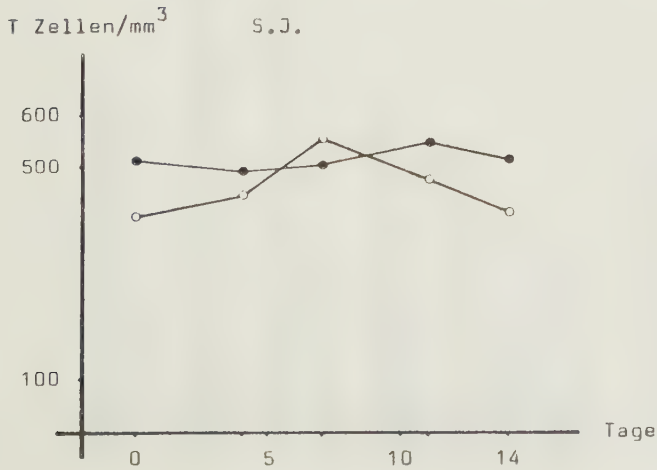
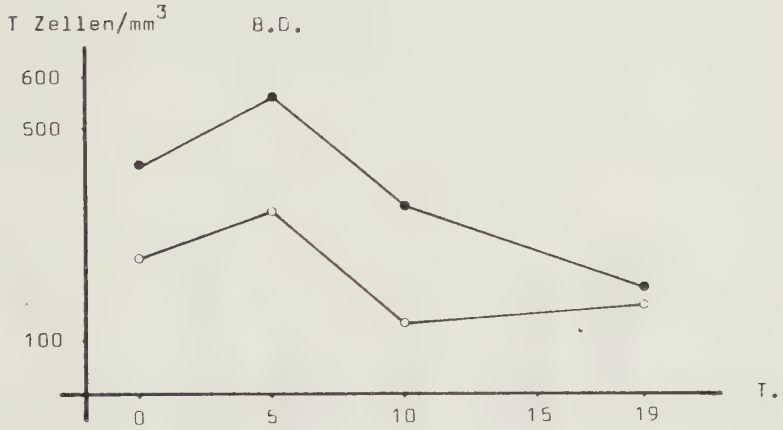


Abbildung 22: T Zell-Verlauf während der Lymphapherese
(●—● T₄, ○—○ T₈)

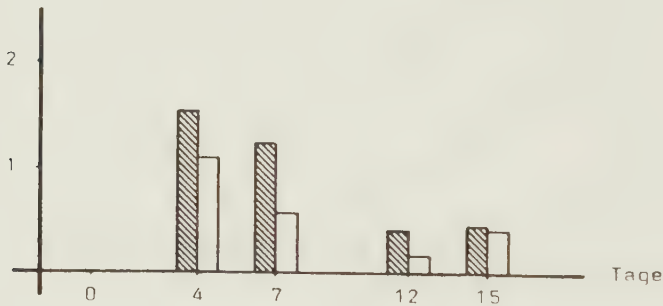


Abbildungen 23,24: T Zell-Verlauf während der Lymphapherese
(●—● T₄, ○—○ T₈)

Am aussagekräftigsten ist die Entwicklung des T_4/T_8 Verhältnisses im Verlauf der Therapie. Dazu wurden in regelmäßigen Abständen die T Zell-Untergruppen vor und nach einer Lymphapherese bestimmt und zueinander ins Verhältnis gesetzt.

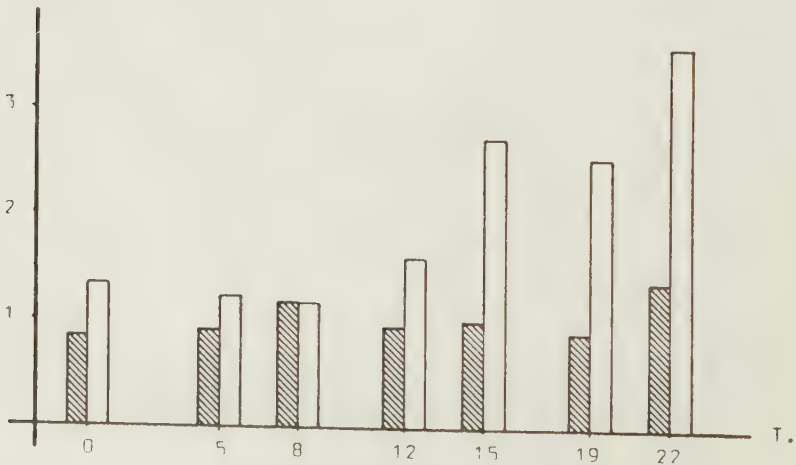
T_4/T_8

L.R.



T_4/T_8

M.J.



Abbildungen 25, 26: T_4/T_8 Quotienten vor und nach der Therapie im Verlauf

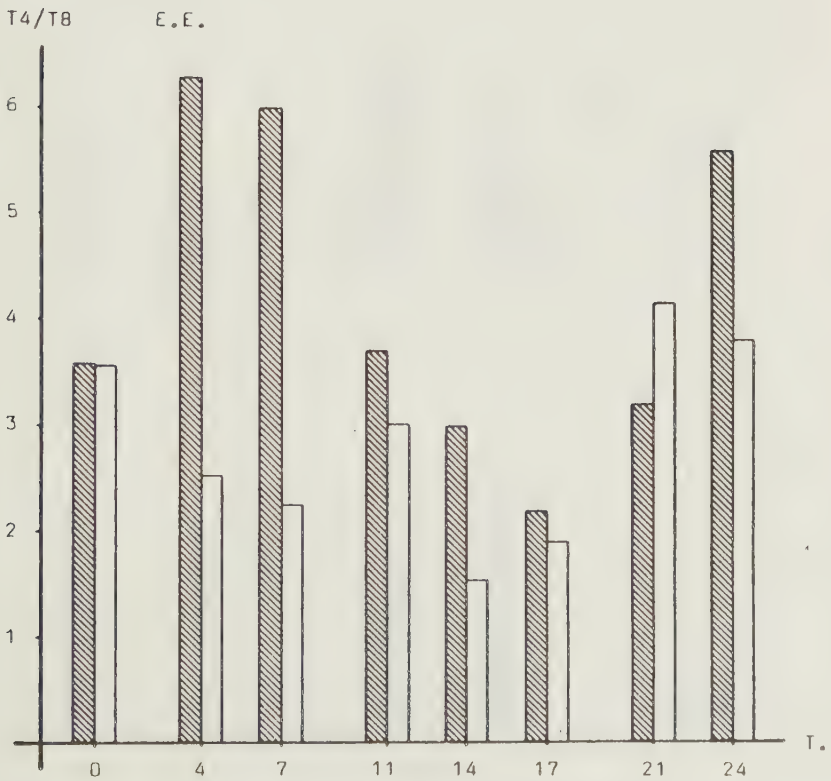
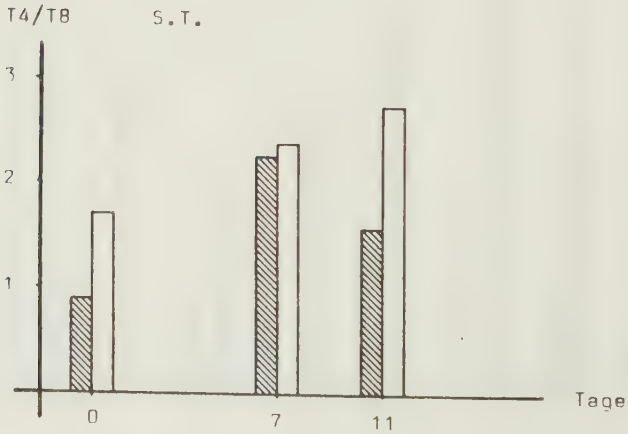
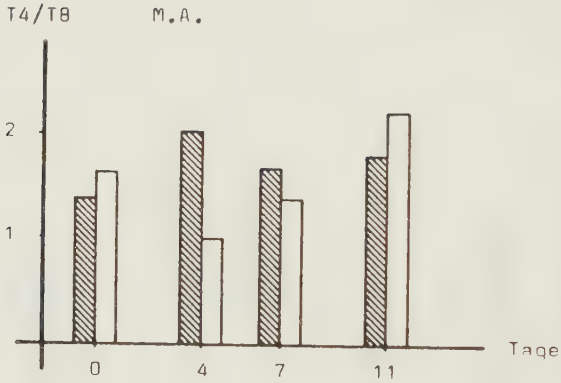
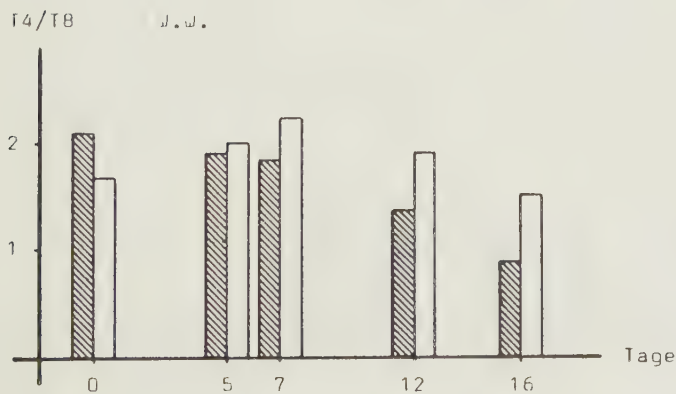
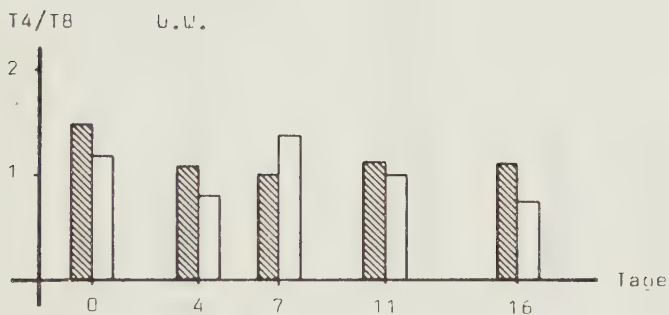


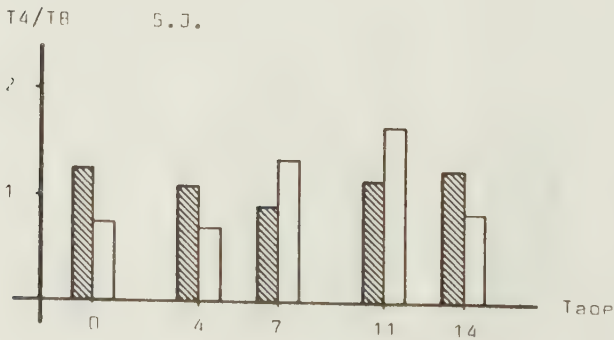
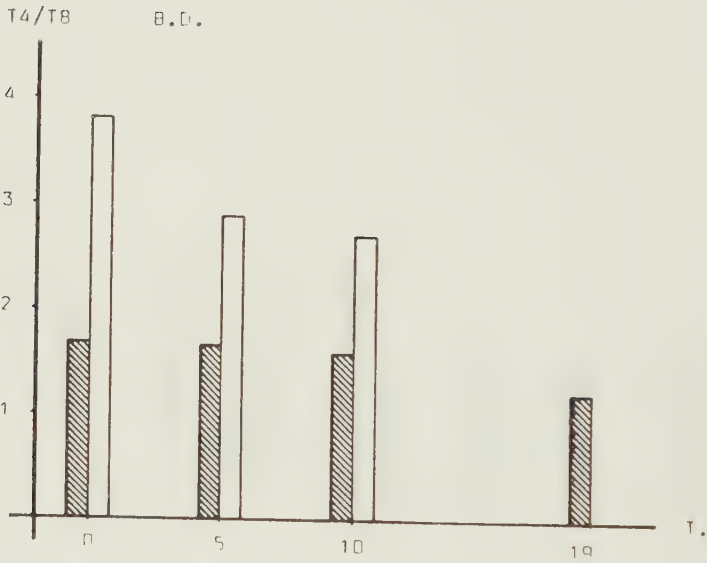
Abbildung 27: T_4/T_8 Quotienten vor  und nach  der Therapie im Verlauf



Abbildungen 28, 29: T_4/T_8 Quotienten vor  und nach  der Therapie im Verlauf



Abbildungen 30, 31: T₄/T₈ Quotienten vor und nach der Therapie im Verlauf



Abbildungen 32, 33: T_4/T_8 Quotienten vor  und nach  der Therapie im Verlauf

Die folgende Tabelle beinhaltet die prozentuale Zu- oder Abnahme der jeweils vor der Lymphapherese ermittelten Quotienten. Die Patienten mit dem besten Therapieerfolg (U.W., W.W., B.D.) hatten alle eine deutliche Abnahme des Verhältnisses. Die Prozentzahlen wurden dafür einer rechnerisch ermittelten Ausgleichsgeraden entnommen.

Tabelle 9: Prozentuale Verschiebung der T_4/T_8 Quotienten

Name	Zunahme	Abnahme
L.R.		108 %
M.J.	25 %	
E.E.		25 %
M.A.	21 %	
S.T.	79 %	
U.W.		25 %
W.W.		57 %
B.D.		19 %
S.J.	0 %	

Parallel zu den oben stehenden Untersuchungen wurde auch das T_4/T_8 Verhältnis der eliminierten Lymphozyten untersucht. Es ergab sich hierbei weder eine Beziehung zu der Verteilung im peripheren Blut, noch zu der Entwicklung des T_4/T_8 Verhältnisses im Verlauf der Therapie.

4.4. Nachuntersuchungen

Fast alle Patienten erhielten nach Abschluß der Lymphozytapherese eine erneute Basistherapie. Die Hälfte begann eine Behandlung mit Imurek, andere bekamen Azulfidine, Resochin oder Gold. Der Patient S.J. hatte bereits vor der Lymphapherese auf sämtliche Basistherapeutika einschließlich Azathioprin nicht reagiert oder Nebenwirkungen der Medikamente zwangen zum Abbruch der Therapie. Die Verteilung der Basistherapeutika auf die einzelnen Patienten zeigt die nächste Tabelle.

Tabelle 10: Basistherapie im Anschluß an die Lymphozytapherese

Name	Medikament
L.R.	Imurek
M.J.	Imurek
E.E.	Imurek
M.A.	Resochin
S.T.	Gold
U.W.	Azulfidine
W.W.	Imurek
B.D.	Azulfidine
S.J.	-

Die abschließende Nachuntersuchung ein Jahr nach Beendigung der Therapie ist bei drei Patienten bereits erfolgt.

Die schon vor der Therapie niedrigen Lymphozytenzahlen bewegen sich bei der Patientin L.R. weiterhin unter 1000/ μ l. Der T_4/T_8 Quotient ist wieder über 1 gestiegen.

Die Patientin M.J. hat mit der Ausgangsuntersuchung ein ständig steigendes T_4/T_8 Verhältnis. Die Lymphozytenzahlen, die im Verlauf der Therapie um 107 % gestiegen waren liegen trotz Imurektherapie nach wie vor über dem Ausgangswert.

Bei der Patientin E.E. hat sich nach der Therapie eine deutliche Lymphopenie entwickelt. Das T_4/T_8 Verhältnis ist aber nach wie vor extrem hoch (5,0 bei der Abschlußbestimmung).

Der Verlauf der Lymphozyten und T_4 , T_8 Zellen ist bis zum jetzigen Stand in den folgenden Tabellen festgehalten. Die abgeschlossenen Untersuchungen sind zusätzlich in Graphiken dargestellt.

Tabelle 11: Verlauf der Lymphozyten [μl^{-1}] im Beobachtungszeitraum Prozentzahlen in Klammern

Name	vor LP	nach LP	6 Wo.	3 Mon.	6 Mon.	9 Mon.	1 Jahr
L.R.	621 (9)	1004 (12)	-	-	836 (11)	-	792 (11)
M.J.	952 (8)	2000 (16)	1112 (8)	1056 (11)	-	-	1860 (20)
E.E.	2085 (15)	1691 (19)	1246 (14)	1215 (15)	712 (8)	-	490 (5)
M.A.	5635 (49)	3096 (24)	2806 (23)	-	2992 (22)	3080 (22)	
S.T.	1840 (16)	2392 (27)	-	1785 (17)	1365 (13)		
U.W.	1634 (19)	608 (8)	948 (12)	976 (16)			
W.W.	2640 (22)	1110 (10)	1440 (15)	1034 (11)			
B.D.	1350 (11)	760 (5)	242 (2)				

Tabelle 12: Verlauf der T_4/T_8 Subpopulationen pro μ l
und in % der Lymphozyten in Klammern

Name	T	vor LP	nach LP	6 Wo.	3 Mon.	6 Mon.	9 Mon.	1 Jahr
L.R.	4	245 (40)	201 (20)	-	-	301 (36)	-	270 (34)
	8	158 (26)	442 (44)	-	-	234 (28)	-	238 (30)
M.J.	4	270 (29)	820 (41)	367 (33)	349 (33)	-	-	986 (53)
	8	325 (34)	600 (30)	245 (22)	190 (18)	-	-	335 (18)
E.E.	4	1063 (51)	1065 (63)	748 (60)	462 (38)	320 (45)	-	294 (60)
	8	292 (14)	168 (11)	199 (16)	158 (13)	78 (11)	-	59 (12)
M.A.	4	2649 (49)	1331 (43)	1375 (49)	-	1077 (36)	2002 (65)	
	8	1916 (34)	743 (24)	702 (25)	-	598 (20)	554 (18)	
S.T.	4	626 (34)	933 (39)	-	714 (40)	410 (30)		
	8	699 (38)	550 (23)	-	500 (28)	341 (25)		
U.W.	4	703 (43)	219 (36)	455 (48)	400 (41)			
	8	474 (29)	201 (33)	123 (13)	283 (29)			
W.W.	4	1267 (48)	411 (37)	619 (43)	341 (33)			
	8	607 (23)	466 (42)	317 (22)	259 (25)			
B.D.	4	432 (32)	203 (29)					
	8	257 (19)	168 (24)					
S.J.	4	513 (38)	517 (40)	564 (42)				
	8	405 (30)	413 (32)	403 (30)				

Tabelle 13: Verlauf des T_4/T_8 Quotienten im Beobachtungszeitraum

Name	vor LP	nach LP	6 Wo.	3 Mon.	6 Mon.	9 Mon.	1 Jahr
L.R.	1,55	0,47	-	-	1,28	-	1,13
M.J.	0,85	1,37	1,5	1,83	-	-	2,94
E.E.	3,58	5,6	3,75	2,92	4,09	-	5,0
M.A.	1,38	1,79	1,96	-	1,8	3,6	
S.T.	0,89	1,56	-	1,43	1,2		
U.W.	1,48	1,1	3,69	1,76			
W.W.	2,1	0,88	1,96	1,32			
B.D.	1,68	1,21					
S.J.	1,27	1,25	1,4				

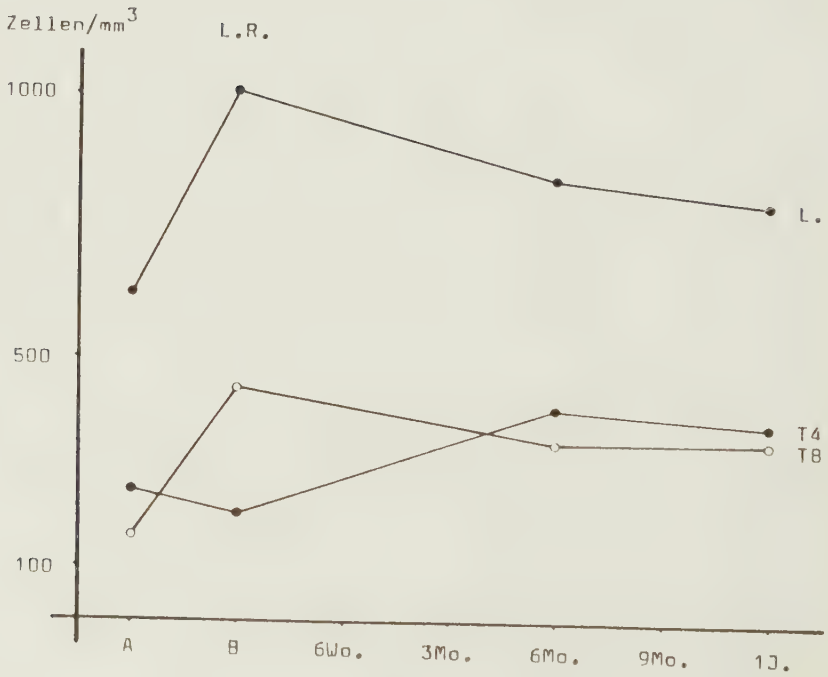


Abbildung 34: Verlauf der Lymphozyten, T₄ und T₈ Zellen im Beobachtungszeitraum (A vor, B nach der LP)

Zellen/mm³

M.J.

64

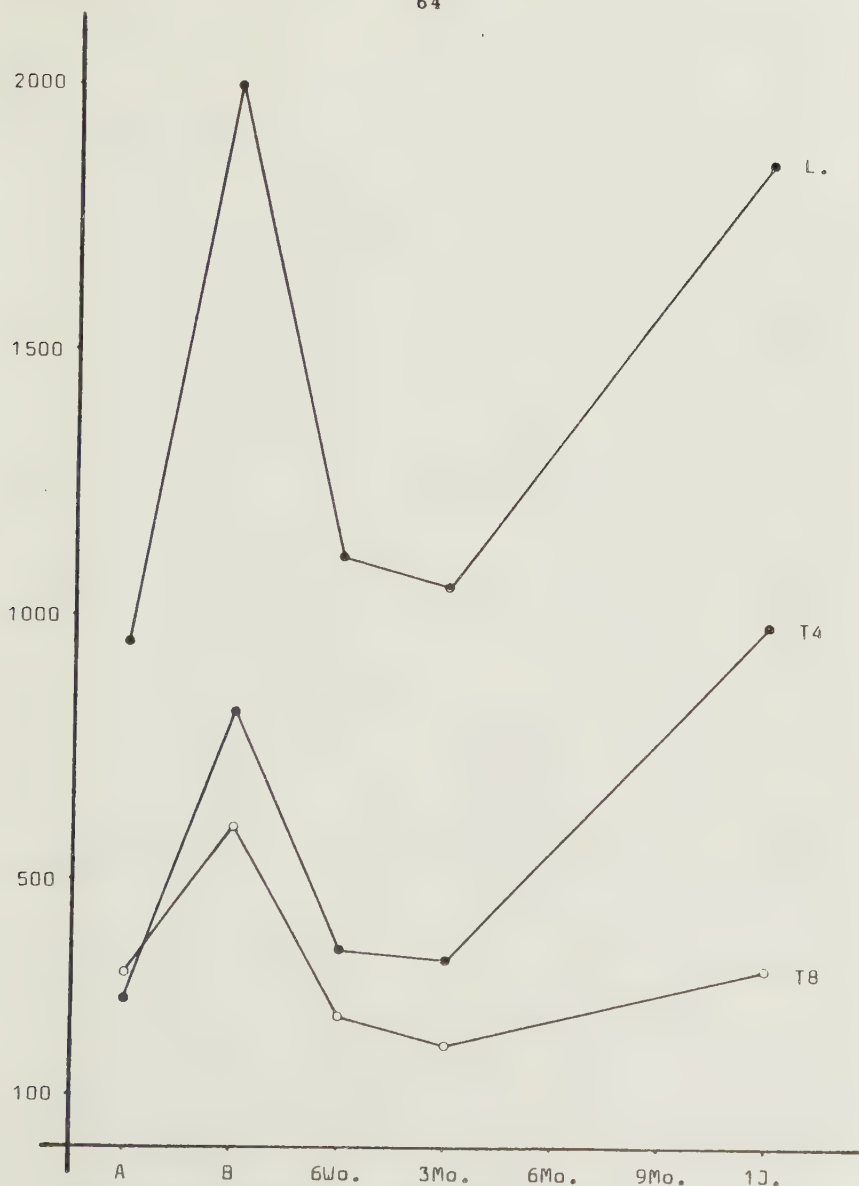


Abbildung 35: Verlauf der Lymphozyten, T₄ und T₈ Zellen im Beobachtungszeitraum (A vor, B nach der LP)

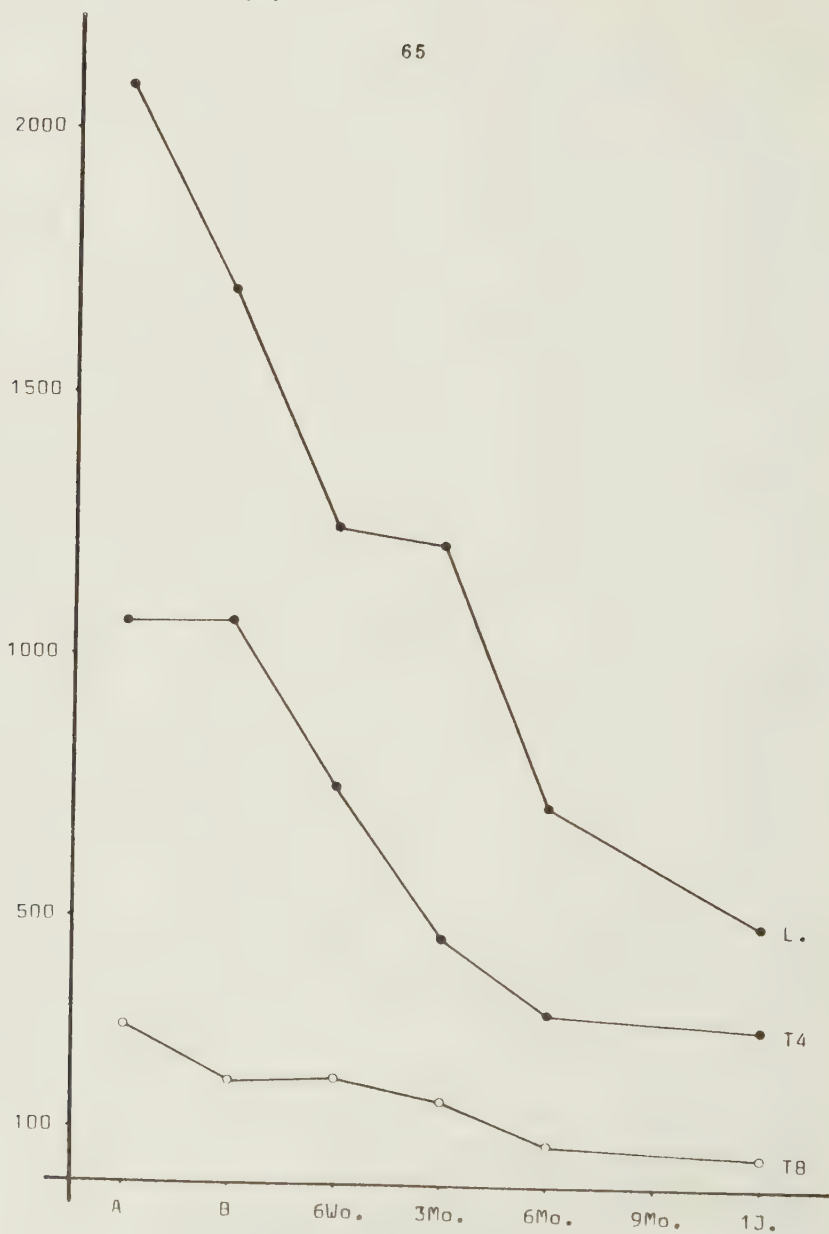


Abbildung 36: Verlauf der Lymphozyten, T₄ und T₈ Zellen im Beobachtungszeitraum (A vor, B nach der LP)

5. DISKUSSION

Basierend auf der Einteilung unter Punkt 4.1. wird im folgenden die Beziehung zwischen dem Ergebnis unserer Untersuchungen und dem Erfolg oder Mißerfolg der Therapie hergestellt; die detaillierten Parameter, auf denen diese Einteilung beruht, wurden im Rahmen einer weiteren parallelen Doktorarbeit dargestellt.

Unabhängig war der Erfolg von der Zahl der eliminierten Lymphozyten. Nach sechs Apheresen war bei der erfolgreichen Gruppe, deren Patienten zu diesem Zeitpunkt bereits eine deutliche Besserung zeigten, die Zahl der entfernten Lymphozyten sogar niedriger als die durchschnittlich eliminierten Zellen der anderen Patienten. Dies bestätigt die Aussage von KARSH, daß in allen bisherigen Studien klinische Erfolge erzielt wurden, bevor große Zahlen von Lymphozyten entfernt worden waren (19).

Die Zahl von $4,22 \times 10^8$ pro Apherese eliminierten Lymphozyten ist dabei in der Größenordnung mit anderen Studien gut vergleichbar (4,6,58). Die Tatsache, daß die insgesamt je Patient gesammelten Lymphozyten mit 30×10^8 Zellen weniger sind als in anderen Untersuchungen mit zum Teil über 80×10^8 Zellen, spielt demnach für den Therapieerfolg keine entscheidende Rolle (6,19). Trotzdem ist eine Beziehung zwischen der Entwicklung einer Lymphopenie und dem Therapieerfolg nicht zu leugnen. Die drei Patienten mit der deutlichsten prozentualen Abnahme und der niedrigsten absoluten Zahl nach der Therapie hatten auch den besten Erfolg. Die durchschnittliche Reduzierung der Lymphozyten von $1875 \pm 678/\mu\text{l}$ auf $806 \pm 267/\mu\text{l}$ (Mittelwert der Patienten $\pm$ Standardabweichung) entspricht den Werten von KARSH 1981, PAULUS und KOTZIN.

Die Betrachtungen zu T Zell-Untergruppen der Lymphozyten im Rahmen der cP wurden bisher ausschließlich mit der Immunfluoreszenzmethode durchgeführt. Seit 1984 besteht die Möglichkeit, Immunobeads von der Firma Bio Rad Laboratories zur Unterscheidung der T Zell-Subpopulationen einzusetzen. Vorteile sind die Zeitersparnis im Labor von etwa 50 % und die Auswertung mit einem Mikroskop ohne aufwendige und teure Fluoreszenzeinrichtung. Der einzige Nachteil ist, daß die Auswertung mit maximal 12stündiger Verzögerung erfolgen muß, da eine Fixierung der Proben nicht möglich ist. Die Immunobeadmethode stellt also eine interessante Alternative dar, obwohl auf dem Gebiet der cP noch nicht ausreichende Referenzuntersuchungen zur Fluoreszenzmethode existieren. Verschiebungen bei den T Zell-Untergruppen sind jedoch auch jetzt schon uneingeschränkt zu beurteilen.

Wenig untersucht ist dabei die Beziehung zwischen der T_4 , T_8 Zellentwicklung und etwaigen Therapieerfolgen der Lymphozytapherese. KOTZIN bemerkte im Rahmen der totalen Lymphknotenbestrahlung eine deutliche Verschiebung des T_4/T_8 Verhältnisses zugunsten der T_8 Zellen, die mit der Besserung der cP einherging. Eine ähnliche, wenn auch nicht so krasse Veränderung besteht auch bei den drei deutlich gebesserten Patienten unserer Untersuchung. Ihr gemittelttes T_4/T_8 Verhältnis verschob sich von 1,75 vor auf 1,06 nach der Therapie. Die anderen Patienten zeigten im Mittel eine Zunahme des Quotienten von 1,59 auf 2,01. Analysiert man die Verschiebungen der T Zell-Untergruppen, so stellt man fest, daß bei der ersten Gruppe sowohl eine Abnahme der T_4 Zellen von 41 auf 34 % der Lymphozyten als auch eine Zunahme der T_8 Zellen von 24 auf 33 % die Quotientenverschiebung bewirken. Dieser Verlauf entspricht der Erfahrung von VEYS, daß mit der Aktivität der Erkrankung die T_4

Zellen zu-, die T_8 Zellen abnehmen, und damit das Verhältnis T_4 zu T_8 steigt (56).

Eine entgegengesetzte Entwicklung nimmt der Quotient bei den ebenfalls anergen Patienten in der Studie von WAHL. Bei den gebesserten Patienten stieg er von 1,8 vor auf 2,2 nach der Apheresetherapie. Der Anstieg ist wahrscheinlich mit dem von ihm ebenfalls beschriebenen Verlust der Anergie zu erklären, die mit einem erniedrigten T_4/T_8 Verhältnis einhergeht. Diese Veränderung war bei unseren Patienten nicht festzustellen.

In Bezug auf den T_4/T_8 Quotienten der eliminierten Lymphozyten ist zu sagen, daß die Aussage von WAHL, der Quotient stimme im peripheren Blut und in den entfernten Zellen überein, unseren Ergebnissen widerspricht. In unserer Studie ließ sich keine Korrelation feststellen. Seine Aussage basierte allerdings auch nur auf zwei Untersuchungen pro Patient, unsere dagegen wurden stets gemeinsam mit den T Zell-Bestimmungen im peripheren Blut gemacht.

Ein Vergleich der T_4 , T_8 Veränderungen während der Lymphozytapherese mit den Werten bei anderen Therapieverfahren ist bisher mangels vergleichbarer Studien nicht durchführbar. Lediglich PFREUNDSCHUH e.a. bestimmten bei 9 Patienten den T_4/T_8 Quotienten während einer Basistherapie mit Gold. Sie stellten eine signifikante Verminderung der T_8 Zellen im Verlauf der Therapie fest (34). Verglichen mit den erfolgreich therapierten Patienten unserer Studie zeigte sich bei PFREUNDSCHUH also eine völlig entgegengesetzte Entwicklung des T_4/T_8 Quotienten.

Die parallel zu unseren Untersuchungen im Rahmen der Lymphozytapherese bestimmten T_4/T_8 Quotienten bei 10 Normalpersonen und 23 cP-Patienten brachten ein überraschendes Ergebnis. Mit $1,62 \pm 0,66$ (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) lag der Quotient bei den cP Patienten sogar niedriger als

beim Normalkollektiv mit $1,78 \pm 0,57$. Abweichend von den meisten sonstigen Studien stellten eine ähnliche Befundkonstellation nur die unten aufgeführten Autoren fest. Ihre Erklärungen dafür sind im Anschluß kurz zusammengefaßt.

- ABE e.a. fanden einen erhöhten Quotienten nur bei Patienten mit Vaskulitis. Die anderen hatten wie unserer Untersuchung im Durchschnitt einen erniedrigten Quotienten (1).
- VEYS e.a. 1982 beschrieben eine erhöhte T_4/T_8 Ratio nur im aktiven Stadium der cP (56).
- WAHL 1983 und HARAOUÏ 1984 teilten die Patienten mit cP wie schon beschrieben nach dem Ergebnis der Lymphozytenstimulation ein. Die Gesamtzahl der Patienten besitzt bei beiden eine "normale" T_4 , T_8 Verteilung. Schlüsselt man die Patienten jedoch nach Anergie oder Normergie auf, so werden signifikante Unterschiede deutlich (16, 58).

Tabelle 14: Verteilung des T_4/T_8 Quotienten bei WAHL und HARAOUÏ im Vergleich zu unserer Studie.

	Kontrollen	cP Patienten		
		gesamt	anerg	normerg
WAHL	2,60	2,60	1,60	3,10
HARAOUÏ	2,40	2,60	1,90	3,50
eigene Werte	1,78	1,62	1,45*	2,14*

* signifikanter Unterschied $p < 0,02$ (Wilcoxon-Mann-Whitney Test)

Die letzte Erklärung stimmt, wie auch die Tabelle zeigt, am besten mit den Ergebnissen unserer eigenen Untersuchung überein. Zusätzlich bestätigt unsere Untersuchung den signifikanten Unterschied im T Zell-Verhältnis zwischen anergen und normergen Patienten. Die Ähnlichkeit des Quotien-

ten zwischen Anergien und dem Gesamtkollektiv ergibt sich aus der Tatsache, daß 77 % unserer Patienten zum Zeitpunkt der Bestimmung anerg waren.

Die Unterscheidung der Patienten in Bezug auf eine Kortikosteroidtherapie brachte das erwartete Ergebnis. Die Patienten mit Steroidtherapie lagen mit einem T_4/T_8 Verhältnis von 1,48 niedriger als jene ohne Steroide (Quotient 1,74). Diese T_4/T_8 Quotientenverteilung entspricht den Erkenntnissen von B.F. HAYNES, daß Steroide einen suppressierenden Effekt auf Lymphozyten, vor allem auf die T-Helfer-Zellen ausüben (17). Bei der relativ kleinen Zahl von untersuchten Patienten ist dieses Ergebnis jedoch statistisch nicht signifikant.

Die Bewertung der Nachuntersuchungen zum jetzigen Zeitpunkt ist schwierig, da sie nur bei drei Patienten abgeschlossen sind. Ein klarer klinischer Erfolg ist in der an die nicht voll befriedigende Lymphapherese angeschlossenen Azathioprintherapie der Patientin L.R. zu sehen. Ob diese Kombination von Lymphozytapherese und Azathioprintherapie allgemein erfolgreich ist, kann erst mit dem Vorliegen aller Ergebnisse gesagt werden. Ebenso verhält es sich mit der Bewertung der Langzeitwirkung; die drei Patienten mit klinischem Erfolg stehen erst einige Monate unter Beobachtung. Die Fortsetzung der positiven Krankheitsentwicklung bei den bisherigen Nachuntersuchungen ist jedoch mehr als nur ein erfreulicher Trend.

Unter Berücksichtigung dieser Vorbehalte für ein abschließendes Urteil liegt unsere Untersuchung mit 33 % klarem Erfolg, 45 % moderatem Erfolg und 22 % Mißerfolg im Rahmen der bisher veröffentlichten Studien mit Lymphozytapheresetherapie. Es ist dabei zu bedenken, daß eine Selektion

tion von schweren und fortgeschrittenen cP-Fällen vorlag und unter anderem eine vorausgegangene Therapie mit Basis-therapeutika bereits gescheitert war. Ein genereller Einsatz der Lymphozytapherese im Rahmen der Therapie der cP ist ohne jedoch auf Grund der hohen Material- und Personalkosten nach dem derzeitigen Erkenntnisstand sicherlich nicht zu empfehlen. Nach wie vor ist dieses Verfahren bei der cP vorwiegend Spezialindikationen, wie Organbeteiligung und/oder Vaskulitis, vorbehalten. Die zusätzliche Anwendung der Lymphozytapherese bei schwerer, aktiver cP nach erfolgloser Basistherapie vor der Verwendung zytotoxischer Medikamente ist für bestimmte Patienten zu diskutieren (2). Dabei sollte die bisher zu wenig berücksichtigte Beziehung zwischen der Verteilung der T Zell-Subpopulationen und einem Therapieerfolg weiter untersucht und Vergleiche zu Ergebnissen, z.B. mit Basis-therapeutika, gezogen werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Studie wurde bei neun Patienten nach erfolgloser Behandlung mit verschiedenen Basistherapeutika die Lymphozytapherese zur Therapie der cP eingesetzt. Parallel dazu erfolgte die Bestimmung der T_4 Helfer- und der T_8 Suppressor-Lymphozyten. Drei Patienten zeigten nach Klinik und Laborparametern deutlichen Erfolg, fünf moderate Erfolge und zwei keinen Erfolg. Die klare Besserung des Krankheitsbildes entwickelte sich bereits innerhalb 14 Tagen nach Therapiebeginn, das heißt vor der sechsten Apherese. Sie ging mit der Entwicklung einer Lymphopenie und der deutlichen Verminderung des T_4/T_8 Verhältnisses einher. Beide Veränderungen korrelierten in keiner Weise mit der Zahl der T Zell-Zusammensetzung der eliminierten Zellen. Bei allen Patienten wurden in regelmäßigen Abständen bis zu einem Jahr die schon während der Therapie untersuchten Parameter kontrolliert. Der Therapieerfolg der drei gebesserten Patienten hält im Beobachtungszeitraum von bis jetzt sieben, sechs bzw. drei Monaten an. Bei anderen Patienten konnte der moderate Erfolg mit der anschließenden Imurektherapie erhalten werden.

Die Aufschlüsselung der insgesamt untersuchten Patienten nach der Lymphozytenstimulation ergab für das T_4/T_8 Verhältnis einen signifikanten Unterschied ($p < 0,02$), die Einteilung nach einer laufenden Steroidtherapie ließ nur eine Tendenz erkennen. Zur Bewertung der Lymphozytapherese in der Therapie der cP ist zu sagen, daß sie nach erfolgloser Basistherapie und vor dem Einsatz medikamentöser Immunsuppression bei bestimmten Patienten eine sinnvolle Ergänzung darstellt.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ABE, T., Takeuchi, T., Koide, J., Hosono, O., Homma, M., Morimoto, C., and R. Yohohari: Suppressor T cell function in patients with rheumatoid arthritis complicated by vasculitis. *Arthritis and Rheumatism* Vol. 27, No. 7, 752-759 (July 1984)
- 2 BENNET, R.S. and M.J. Hamburger: A critical review of therapeutic apheresis in the treatment of severe rheumatoid arthritis. *Therapeutic Apheresis and Plasma Perfusion*. 33-48 (1982)
- 3 BERTOUCHE, J.V., Roberts-Thomson, P.J., Brooks, P.M., and J. Bradley: Lymphocyte subsets and inflammatory indices in synovial fluid and blood of patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology* Vol. 11, No. 6, 754-759 (1984)
- 4 BOERBOOMS, A.M.Th., De Rooy, D.J.R.A.M., Jeerdink P.J., van de Putte L.B.A., and F.A.M. van den Ouweland: Lymphapheresis as compared with rest period in treatment of severe rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology* Vol. 3, No. 1, 21-27 (1984)
- 5 BOKU, E., Yoshida Y., Sawada J., Uchino H., Senaha Y., Kamio T., Okumura H., and S. Yamamuro: Treatment of refractory rheumatoid arthritis with lymphocytapheresis. *Therap. Plasmapheresis* II, 275-280 (1982)
- 6 BUNCH, T.W., O'Duffy J.D., Pineda A.A., and A.R. Zinsmeister: Lymphapheresis in rheumatoid arthritis. *Journal of Clinical Apheresis* No. 2, 127-134 (1984)

- 7 DECKER, J.L.: Rheumatoid arthritis: Evolving concepts of pathogenesis and treatment. *Annals of Internal Medicine* No. 101, 810-824 (1984)
- 8 DEQUEKER, J., Naesens, M., Martens, J., and R. Pieters: The effect of plasma exchange on synovitis in rheumatoid arthritis. *Scandinavian Journal of Rheumatology* No. 10, 273-279 (1981)
- 9 DUCLOS, M., Zeidler, H., Liman, L., Pichler, W.J., Rieber, P., and H.H. Peter: Characterisation of blood and synovial fluid lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis and other joint diseases by monoclonal antibodies (OKT-series) and acid α -Naphthyl esterase staining. *Rheumatology International*, Nr. 2, 75-82 (1982)
- 10 DWOSH, I.L., Giles, A.R., Ford, P.M., Pater, J.Z., and T.P. Anastassiades: Plasmapheresis therapy in rheumatoid arthritis: a controlled double blind, crossover trial. *New England Journal of Medicine*, No. 308, 1124-1129 (1983)
- 11 EDER, M. and P. Gedigk: *Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie*. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York S. 174 (1977)

- 12 FØRRE, Ø., Thoen, J., Dobloung, J.H., Egeland, T., Kvien, T.K., Mellbye, J., and J.B. Natvig: Detection of T lymphocyte subpopulations in the peripheral blood and the synovium of patients with rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis using monoclonal antibodies. *Scandinavian Journal of Immunology* No. 15, 221-226 (1982)
- 13 FORESTIER, M.J.: Rheumatoid arthritis and its treatment by gold salts. The results of six year's experience. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* No. 20, 827 (1935)
- 14 FOX, R.J., Fong, S., Sabharwal, N., Carstens, S.A., Kung, P.C., and J.H. Vaughan: Synovial fluid lymphocytes differ from peripheral blood lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of Immunology*, Vol. 128, No. 1, 351-354 (1982)
- 15 GALILI, N., Galili, U., Klein, E., Rosenthal, L. and B. Nordenskjöld: Human T lymphocytes become glucocorticoid-sensitive upon immune activation. *Cell Immunology* No. 50, 440-444 (1980)
- 16 HARAQUI, B., Wilder, R.L., Mallone, D.G., Allen, J.B., Katona, I.M., and S.M. Wahl: Immune function in severe active rheumatoid arthritis: A relationship between blood mononuclear cell proliferation to soluble antigens and mononuclear cell subsets profiles. *The Journal of Immunology* No. 133, 697-701 (1984)

- 17 HAYNES, B.F. and A.S. Fauci: The differential effect of in vivo hydrocortisone on the kinetics of subpopulations of human peripheral blood thymus-derived lymphocytes. *Journal of Clinical Investigation* No. 61, 703-707 (1978)
- 18 JUDSON, G., Jones, A., Kellog, R., Buckner, D., Eisel, R., Perry, S., and W. Grenough: Closed continuous-flow centrifuge. *Nature*, Vol. 217, 816-818 (March 1968)
- 19 KARSH, J., Klippel, J.H., Plotz, P.H., Decker, J.L., Wright, D.G., and M.W. Flye: Lymphapheresis in rheumatoid arthritis: a randomized trial. *Arthritis and Rheumatism* Vol. 24, No. 7, 867-873 (July 1981)
- 20 KARSH, J., Wright, D.G., Klippel, J.H., Decker, J.C., Deisseroth, A.B., and M.W. Flye: Lymphocyte depletion by continuous flow cell centrifugation in rheumatoid arthritis: clinical effects. *Arthritis and Rheumatism* Vol. 22, 1055-1059 (1979)
- 21 KLIPPEL, J.H.: Apheresis biotechnology and rheumatic diseases. *Arthritis and Rheumatism* Vol. 27, No. 10, 1081-1085 (Oct. 1984)
- 22 KOCH, R.: Über bakteriologische Forschung. *Deutsche medizinische Wochenschrift*. Nr. 16, 756 (1890)

- 23 KOTZIN, B.L., Strober, S., Engleman, E.G., Calin, A., Hoppe, R.T., Kansas, G.S., Terrel, C.P., and H.S. Kaplan: Treatment of intractable rheumatoid arthritis with total lymphoid irradiation. The New England Journal of Medicine Vol. 305, No. 17, 969-976 (Oct. 1981)

- 24 LICHTENTHAELER, C.: Geschichte der Medizin. Deutscher Ärzte Verlag 1982

- 25 LIPSKY, D.E. and M. Ziff: Inhibition of human helper T cell function in vitro by D-Penicillamin and CuSO_4 . Journal of Clinical Investigation No. 65, 1069-1076 (1980)

- 26 MACKENZIE, A.H.: Pharmacologic actions of 4-aminoquinoline compounds. American Journal of Medicine No. 75 (suppl.), 5-10 (1983)

- 27 MEURER, S.C., Schlossmann, S.F., and E.L. Reinherz: Clonal analysis of human cytotoxic T lymphocytes: T_H ' and T_E ' effector T cells recognize products of different major histo-compatibility complex region. Proceedings of National Academy of Science No. 79, 4395-4399, (1982)

- 28 MOORE, M.A.S. and J.J.T OWEN: Experimental studies on the development of the thymus. Journal of Experimental Medicine No. 126, 715-725 (1967)

- 29 MÜLLER, W. und F. Schilling: Differentialdiagnose rheumatischer Erkrankungen, 2. Auflage, Aesopus Verlag Basel, Wiesbaden S. 128 (1982)

- 30 OWEN, J.T.T. and M.C. Raff: Studies on the differentiation of thymus derived lymphocytes. *Journal of Experimental Medicine* No. 132, 1216-1232 (1970)
- 31 PAULUS, H.E., Machleder, H.J., Levine, S., Yu, D.T.Y., and N.S. MacDonald: Lymphocyte involvement in rheumatoid arthritis: Studies during thoracic duct drainage. *Arthritis and Rheumatism* Vol. 20, No. 6, 1249-1262 (July August 1977)
- 32 PARILLO, J.E. and A.S. Fauci: Mechanisms of glucocorticoid action on immune process. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* No. 19, 179-201 (1979)
- 33 PFREUNDSCHUH, M.P., Michel, M., Parino, G., Gram, N., Stock, C., Gause, A., and W. Hunstein: T lymphocyte subpopulations in rheumatoid arthritis. II. Definition by monoclonal antibody. *Zeitschrift für Rheumatologie* Nr. 40, 245-249 (1981)
- 34 PFREUNDSCHUH, M.P., Parino, G., Gram, N., Bröker, A., Gause, A., and W. Hunstein: The influence of chrysotherapy on T-lymphocyte subpopulations in rheumatoid arthritis. *Zeitschrift für Rheumatologie* Nr. 42, 328-331 (1983)
- 35 PLOTZ, P.H.: Aspirin and Salicylate. *Textbook of Rheumatology* S. 740-747 (1980)

- 36 RAEMAN, F., de Cock, W., de Beukelaar, T., Leempoels, J., de Cree, J., and H. Verhaegen: Enumeration of T lymphocytes and T-lymphocyte subsets in rheumatoid arthritis using monoclonal antibodies. *Clinical rheumatology* Vol. 1, No. 3, 194-198 (1982)

- 37 RAFF, M.G.: Surface antigenic markers for distinguishing T and B lymphocytes in mice. *Transplantation Review* No. 6, 52-80 (1971)

- 38 REINHERZ, E.L., Kung, P.C., Goldstein, G., and S.F. Schloßman: Further characterization of the human inducer T cell subset defined by monoclonal antibody. *Journal of Immunology* No. 123, 2894-2896 (1979)

- 39 REINHERZ, E.L., Kung, P.C., Goldstein, G., and S.F. Schloßman: Separation of functional subsets of human T cells by a monoclonal antibody. *Proceedings of the National Academy of Science* Vol. 76, 4061-4065 (1979)

- 40 REINHERZ, E.L., Strelkaushas, A.J., O'Brien, C., and S.F. Schloßman: Phenotypic and functional distinctions between the TH_1^+ and JRA^+ T cell subsets in man. *Journal of Immunology* Vol. 123, 83-86 (1979)

- 41 REINHERZ, E.L., Kung, P.C., Goldstein, G., Levey, R.H., and S.F. Schloßman: Discrete stages of intrathymic differentiation: Analysis of normal thymocytes and leucemic lymphoblasts of T lineage. *Proceedings of the National Academy Science* Vol. 77, No. 3, 1588-1592 (3/1980)

- 42 REINHERZ, E.L., Kung, P.C., Goldstein, G., and S.F. Schloßman: A monoclonal antibody reactive with the human cytotoxic/suppressor T cell subset previously defined by a heteroantiserum termed TH₂. Journal of Immunology Vol. 124, No. 3, 1301-1307 (1980)

- 43 REINHERZ, E.L. and S.F. Schloßman: The differentiation and function of human T lymphocytes. Cell, Vol. 19, 821-827 (April 1980)

- 44 REINHERZ, E.L., and S.F. Schloßman: Regulation of the immune response - inducer and suppressor T lymphocyte subsets in human beings. The New England Journal of Medicine Vol. 303, No. 7, 370-373 (1980)

- 45 RITCHIE, D.M., Boyle, J.A., McInnes, J.M., Jasani, M.K., Dalakos, T.G., Grieseson, P., and W.W. Buchanan: Clinical studies with an articular index for the assessment of joint tenderness in patients with rheumatoid arthritis. Quarterly Journal of Medicine, New Series XXXVII No. 147, 393-406 (July 1968)

- 46 ROTHWELL, R.S., Davis, D., Gordon, P.A., Dasgupta, M.K., Johnny, K.V., Russel, A.S., and J.S. Percy: A controlled study of plasma exchange in the treatment of severe rheumatoid arthritis. Arthritis and Rheumatism Vol. 23, 785-790 (1980)

- 47 SALMERON, B. and P.E. Lipsky: Immunosuppressive potential of antimaterials. American Journal of Medicine No. 75 (suppl.) 19-24 (1983)

- 48 SCHETTLER, G.: Innere Medizin. Band II Thieme Verlag Stuttgart, New York 5. Auflage S. 459 (1980)
- 49 SCOTT, D.G.J., Bacon, P.A., Bothamley, J.E., Allen, C., Elson, C.J., and T.B. Wallington: Plasma exchange in rheumatoid vasculitis. *The Journal of Rheumatology* Vol. 8, No. 3, 433-439 (1981)
- 50 STEINBROCKER, O., Träger, C.H., and R.C. Battermann: Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. *Journal of American Medical Association* No. 140, 659-662 (1949)
- 51 TENENBAUM, J., Urowitz, M.B., Keystone, E.C., Dwosh, J.L., and J.E. Curtis: Leukapheresis in severe rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* No. 38, 40-44 (1979)
- 52 TIETZE, C., Schlesinger, P., and P. Stahl: Chloroquin and ammonium ion inhibit receptor-radiated endocytosis of mannose-glycoconjugates by makrophages: apparent inhibition of receptor recycling. *Biochemical and Biophysical Research Community* No. 93, 51-58 (1980)
- 53 TRENTHAM, D.E., Belli, J.A., Anderson, R.J., Buckley, J.A., Goetzl, E.J., David, J.R., and F. Austein: Clinical and immunological effects of total lymphoid irradiation in refractory rheumatoid arthritis. *The New England Journal of Medicine* No. 17, 976-982 (1981)
- 54 UGAL, K., Ziff, M., and P.E. Lipsky: Gold-induced changes in the morphology and functional capabilities of human monocytes. *Arthritis and Rheumatism* No. 22, 1352-1360 (1979).

- 55 VERNON-ROBERTS, B., Dore, J.L., Jessop, J.D., and W.J. Henderson: Selective concentration and localization of gold in makrophages of synovial and other tissues during and after chrysotherapie in rheumatoid patients. Annals of Rheumatic Diseases No. 35, 477-486 (1976)
- 56 VEYS, E.M., Hermanns, P., Schindler, J., Kung, P.C., Goldstein, G., Symoens, J., and J. van Wauwe: Evaluation of T cell subsets with monoclonal antibodies in patients with rheumatoid arthritis. The Journal of Rheumatology Vol. 9, No. 1, 25-29 (1982)
- 57 VEYS, E.M., Verbruggen, G., Hermanns, P., Mielants, H., van Bruwaene, P., de Brabanter, G., de Landsheere, D., and C. Immesoete: Peripheral blood T lymphocytes subpopulations in HLA-B 27 related rheumatic diseases: ankylosing spondylitis and reactive synovitis. The Journal of Rheumatology Vol. 10, No. 1, 140-143 (1983)
- 58 WAHL, S.M., Wilder, R.L., Katona, J.M., Wahl, C.M., Allen, J.B., Scher, J., and J.L. Decker: Lymphapheresis in rheumatoid arthritis: association of clinical improvement with reversal of energy. Arthritis and Rheumatism Vol. 26, No. 9 1076-1084 (Sep. 83)
- 59 WALLACE, D.J., Goldfinger, D., Gatti, R., Lowe, C., Fau, P., Bluestone, R., and J.R. Klinenberg: Plasmapheresis and lymphoplasmaphoresis in the management of rheumatoid arthritis. Arthritis and Rheumatism No. 22, 703-710 (1979)

- 60 WILDER, R.L., Yarboro, C.H., and J.L. Decker: The effects of repeated leukapheresis in patients with severe refractory rheumatoid arthritis. Therapeutic Apheresis and Plasma Perfusion 49-59 (1982)
- 61 ZIELINSKI, C.C., Wolf, A., and M.M. Eibl: Plasmapheresis for rheumatoid arthritis. New England Journal of Medicine No. 309, 986-987 (1983)

Lebenslauf

Hans-Otto Rieger

- 14.2.59 geboren in München als Sohn von Dr. Hans Rieger, Tierarzt und Therese Rieger, Landwirtschaftslehrerin, zwei Geschwister
- Dez. 59 Umzug nach Feldkirchen bei München
- 1965 Besuch der dortigen Grundschule
- 1968 Umzug nach Ingolstadt, Wechsel in die Grundschule "Auf der Schanz"
- 1969 Eintritt ins Christoph-Scheiner-Gymnasium Ingolstadt mathematisch-naturwissenschaftlicher Zweig
- 1978 Abschluß mit dem Abitur und Beginn des Grundwehrdienstes
- 1979 Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians Universität
- 1981 Physikum
- 1982 1. Staatsexamen
- Mai 83 Beginn der Doktorarbeit bei Herrn Prof. Schattenkirchner
- 1984 2. Staatsexamen
- Okt. 85 schriftlicher Teil des 3. Staatsexamens
- Nov. 85 mündlicher Teil des 3. Staatsexamens
- Jan. 86 Abschluß der klinisch experimentellen Untersuchungen zur Doktorarbeit



Danksagung

Zum Schluß möchte ich mich für die Übertragung der Arbeit und die allzeit hilfreiche Unterstützung bei Herrn Prof. Dr. Schattenkirchner bedanken.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. Krüger und Herrn Dr. Demant, die die Grundlage für die praktische Durchführung der Arbeit schufen.

Zuletzt danke ich Frau Autsch vom Rheumalabor und Frau Zachoval vom Pettenkofer-Institut für die Hilfe in allen Laborfragen.

MEMORANDUM

The following is a summary of the information received from the various sources mentioned in the report. It is to be understood that the information is not intended to be a complete statement of the facts, but rather a summary of the information received from the various sources mentioned in the report. The information is to be used for the purpose of the report and is not to be used for any other purpose.

